

Antifouling-Modifizierung von Silikon Katheteroberflächen mit maßgeschneiderten Copolymeren

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades eines
Doktors der Naturwissenschaften

- Dr. rer. nat. -

vorgelegt von

Anne Monika Vaterrodt

geboren in Essen

Lehrstuhl für Technische Chemie II

der

Universität Duisburg-Essen

Essen 2016

Die vorliegende Arbeit wurde im Zeitraum von Juli 2012 bis Juni 2016 im Arbeitskreis von Prof. Dr. Mathias Ulbricht am Lehrstuhl für Technische Chemie II der Universität Duisburg-Essen durchgeführt.

Gutachter: Prof. Dr. Mathias Ulbricht

Zweitgutachter: Prof. Dr. Jochen Gutmann

Vorsitzender: Prof. Dr. Stefan Rumann

Disputation: 29.08.2016

DANKSAGUNG

Zunächst gilt mein großer Dank Herrn Prof. Dr. Mathias Ulbricht, meinem Doktorvater, der mich während meiner Zeit am Lehrstuhl sowohl auf menschlicher als auch auf wissenschaftlicher Ebene exzellent unterstützt hat. Ich möchte mich sowohl für die Bereitstellung des interessanten Themas als auch für die gewährten Freiheiten, die Diskussionsbereitschaft und die zahlreichen nützlichen Ratschläge bedanken.

Zudem danke ich Herrn Prof. Dr. Jochen Gutmann für die freundliche Übernahme des Zweitgutachtens und Prof. Dr. Stefan Rumann als Vorsitzenden meines Disputationsverfahrens.

Diese Arbeit wurde im Rahmen des EU-Projektes NOVO (FP7-27840) durchgeführt. Ich danke für die bereichernden Erlebnisse bei den Projektmeetings, die Zusammenarbeit mit den Projektpartnern und die finanzielle Förderung dieser Arbeit. Mein Dank gilt besonders Dr. Barbara Thallinger für die zahlreichen Durchführungen von mikrobiologischen Untersuchungen und für die Ratschläge und Vorräte an Enzymen.

Weiterhin danke ich Klaus Pärschke für die Bereitstellung des Ellipsometers sowie für die Auswertung der Daten, Dr. Steffen Franzka für die AFM-Messungen und Marc Thomas und Dr. Ulrich Hagemann für die Hilfe bei den XPS-Messungen.

Bei allen derzeitigen und ehemaligen Mitarbeiter/innen des Lehrstuhls für die Technische Chemie II möchte ich mich für die angenehme Arbeitsatmosphäre, die gute Zusammenarbeit und Hilfsbereitschaft bedanken, insbesondere bei Dr. Jackelyn Argón-Gomez, Inge Danielzik, Tobias Kallweit, Roswitha Nordmann-Silberg und Claudia Schenk. Für die gute Zusammenarbeit und den Beitrag zu dieser Arbeit möchte ich mich bei meinen Studenten und Hilfskräften Kevin Daumann (ありがとうございます), Moustafa Elmasri, Kristina Evdoschenko, Dereck Koch, Inga Stratmann und Jan Wieczorek bedanken. Für den vielen Spaß und die Unterstützung in zahlreichen Lebenssituationen möchte ich noch namentlich Janina Brückerhoff, Dominic Bünning, Thomas Knoche, Christian Kuhn, Xi Lin, Thorsten Pieper, Mathias und Polina Quilitzsch, Hanna Thierfeld und Thorsten van den Berg hervorheben.

Allen Lektoren dieser Arbeit danke ich für die Zeit und ihre ehrliche Kritik.

Mein Dank gilt weiterhin meiner Familie, Freunden und besonders meinem Bruderherz Matthias, die immer für mich da waren und mich stets uneingeschränkt unterstützt haben. Ein ganz besonderer Dank geht an Kitty Leung, Manuel Müller, Eva Steinert und Meike Terhürne, dass sie mir stets Kraft geben und mein Leben so sehr bereichern.

gewidmet Marc Birkner

*1985 †2015

„Das Glück kommt zu denen, die lachen!“

Japanische Lebensweisheit

INHALTSVERZEICHNIS

Danksagung	II
Zusammenfassung	X
Abstract	XIII
Abkürzungsverzeichnis	:XVI
1 Einleitung.....	1
2 Grundlagen.....	3
2.1 Blasenkatheter.....	3
2.1.1 Silikone	4
2.2 Biofilmbildung und Biofouling	5
2.3 Vermeidung von Biofouling	7
2.3.1 Bakterienabweisende Oberflächen.....	8
2.3.2 Bakterientötende Oberflächen	8
2.3.3 Antifouling-Strategie	10
2.3.4 Antimikrobielle Enzyme	12
2.3.5 Kontaktbiozide Strategie	14
2.3.6 Kathetermaterialienmodifizierung.....	15
2.4 Strategien zur Oberflächenmodifizierung	17
2.4.1 Oberflächenmodifizierung	17
2.4.2 Funktionalisierung durch Adsorption/Entrapment-Mechanismus.....	18
2.4.3 Layer-by-Layer Beschichtung	20
2.5 Die lebende radikalische Polymerisation durch Atomtransfer	22
2.5.1 Allgemeiner Mechanismus.....	22
3 Zielsetzung und Konzept	27
4 Experimenteller Teil	30
4.1 Charakterisierung von PDMS.....	30
4.1.1 Quellverhalten.....	30
4.1.2 Rheologie.....	31
4.1.3 Thermogravimetrische Analyse.....	33
4.2 Synthese.....	33
4.2.1 Synthesen des amphiphilen Diblock-Copolymer PDMS- <i>b</i> -PSPE.....	34

4.2.2	Synthese des kationischen Copolymers	38
4.3	Polymercharakterisierungen	41
4.3.1	Kernspinresonanz-Spektroskopie (NMR-Spektroskopie).....	41
4.3.2	Gelpermeationschromatographie-Messungen (GPC).....	46
4.3.3	Abgeschwächte Totalreflexions-Infrarot-Spektroskopie (ATR-IR-Spektroskopie) 47	
4.3.4	Elementaranalyse (EA)	47
4.3.5	Bestimmung der kritischen Mizellbildungskonzentration (CMC)	47
4.4	Beschichtungsverfahren	48
4.4.1	Funktionalisierung via Adsorption/Entrapment	48
4.4.2	Silanisierung von Silizium-Wafer	49
4.4.3	Silanisierung von PDMS-Kathetermaterial	49
4.4.4	Funktionalisierung via Polyelektrolyt Multischichten	50
4.4.5	Immobilisierung von Cellobiose Dehydrogenase	50
4.5	Oberflächencharakterisierungen.....	51
4.5.1	Ninhydrin-Nachweis	51
4.5.2	Kontaktwinkelmessungen	51
4.5.3	Zeta-Potentialmessungen	52
4.5.4	Ellipsometrie.....	54
4.5.5	Photoelektronenspektroskopie.....	55
4.5.6	Rasterkraftmikroskopie	55
4.6	Mikrobiologische Untersuchungen	56
4.6.1	Mikro BCA Assay.....	56
4.6.2	Bestimmung der Enzym Aktivität	58
4.6.3	Bestimmung des Biofoulings	59
4.6.4	Bestimmung der Zellvitalität	59
5	Ergebnisse	61
5.1	Charakterisierung von PDMS.....	61
5.1.1	Quellverhalten.....	61
5.1.2	Rheologie.....	62
5.1.3	Thermogravimetrische Analyse.....	64

5.2	Polymersynthese	65
5.2.1	Herstellung von PDMS-PDMAEMA	65
5.2.2	Bestimmung der kritischen Mizellbildungskonzentration des PDMS- <i>b</i> -PDMAEMA in DMF	68
5.2.3	Sulfobetainisierung zum PDMS- <i>b</i> -PSPE.....	69
5.2.4	ATRP von PDMAEMA.....	71
5.2.5	Quarternierung von PDMAEMA.....	74
5.3	Beschichtungsverfahren Adsorption/Entrapment	75
5.3.1	Zeta-Potential Messungen	77
5.3.2	Kontaktwinkelmessungen	78
5.3.3	Biofilm Bildung Messungen.....	80
5.3.4	Proteinadsorptions-Test.....	81
5.4	Beschichtungsverfahren via Layer-by-Layer.....	83
5.4.1	Beschichtung an Silizium Wafer	83
5.4.2	Beschichtung an Silikon-Kathetermaterial.....	92
5.4.3	Enzym Immobilisierung	99
6	Diskussion der Ergebnisse	116
6.1	Charakterisierung des Silikon	116
6.2	Polymersynthese	120
6.2.1	Synthese von amphiphilen Diblock-Copolymeren PDMS- <i>b</i> -PSPE.....	120
6.2.2	Synthese von kationischen Polymeren auf Basis von PDMAEMA	122
6.3	Beschichtungsverfahren Adsorption/Entrapment	125
6.4	Beschichtungsverfahren Layer-by-Layer	133
6.5	Immobilisierung von Cellobiose Dehydrogenase	143
6.6	Kontaktbiozide Beschichtungen	153
7	Schlussfolgerungen und Ausblick.....	156
8	Literaturverzeichnis.....	160
9	Anhang.....	180
9.1	IR-Spektren	180
9.2	NMR-Spektren	181
9.3	CMC-Messung.....	183

9.4	Bewertung der Hansen-Parameter.....	183
9.5	Synthese von PDMS-b-PSPE mit PDMS-Cl (5000 g/mol)	184
9.6	XPS-Messung von PDMS-Material.....	185
9.7	Abbildungsverzeichnis	186
9.8	Tabellenverzeichnis	194
9.9	Liste der verwendeten Materialien	195
9.10	Publikationsliste	197
9.11	Lebenslauf	198
9.12	Erklärung	199

ZUSAMMENFASSUNG

Für viele biomedizinische Anwendungen wie beispielsweise Prothesen, Implantate, Kontaktlinsen oder Katheter impliziert Fouling auf Oberflächen eine große Gefahr einer Infektion, was häufig zu Komplikationen der Behandlung in den Krankenhäusern führt. Zu den häufigsten nosokomialen Infektionen gehören die mit Kathetern assoziierten Harnwegsinfektionen.

Ziel dieser Arbeit war die Funktionalisierung von Silikon-Kathetermaterial mit maßgeschneiderten Copolymeren, um der Katheteroberfläche antibiofouling Eigenschaften zu verleihen. In erster Linie sollte die unspezifische Adhäsion von organischen Verbindungen und Mikroorganismen durch eine elektrostatisch induzierte Hydratations-Schicht basierend auf zwitterionischen Sulfobetain-Polymeren verhindert werden. Zusätzlich sollte die Hydratations-Schicht mit der antimikrobiellen Wirkung des Enzymes Cellobiose Dehydrogenase und der kontaktbioziden Wirkung von quarternären Ammoniumverbindungen kombiniert werden.

Die Funktionalisierung erfolgt zum einen über den direkten Beschichtungsansatz des Adsorption/Entrapment-Verfahrens. Hierzu wurde zunächst ein amphiphiles Diblock-Copolymer synthetisiert; bestehend aus einem hydrophoben Ankerblock, der kompatibel mit dem Silikon-Material ist, und einem funktionellen Block, dem zwitterionischen Sulfobetain. Mit Hilfe der Atom Transfer Radikalpolymerisation (ATRP) wurde an einen Makroinitiator aus Polydimethylsiloxan (PDMS) das Poly(2(Dimethylamino)ethylmethacrylat) (PDMAEMA) gekoppelt und mit Hilfe von 1,3Propansulton zum Sulfobetain umgewandelt. Durch diese Synthese konnten maßgeschneiderte Block-Copolymere PDMS-*b*-PSPE mit molaren Massen von 7 kDa bis 12 kDa und mit einem Massengehalt an 82 % bis 90 % des Zwitterionenblocks hergestellt werden. Mit Hilfe der Funktionalisierung via Adsorption/Entrapment-Prozess konnte eine stabile hydrophile Oberflächenbeschichtung erreicht werden. Jedoch konnte keine vollständige Benetzung des PDMS mit Wasser erreicht werden, wie die Beobachtung der Zeta-Potential-Messung und des Kristallviolett-Tests zur Messung der Biofilm-Bildungen nahlegten. Dennoch konnte durch die Messung der spezifischen Proteinadsorptionen eine deutliche Reduzierung der Adhärenz des Proteins BSA festgestellt werden. Hierbei zeigte sich eine Abhängigkeit von der Kettenlänge des funktionellen Anteils, sodass mit dem größten

zwitterionischen Anteil bis zu 90 % weniger BSA-Adsorption im Vergleich zur Referenzprobe erreicht werden konnte.

Zum anderen erfolgte die Funktionalisierung des PDMS-Kathetermaterials via *Layer-by-Layer*-Technik. Hierzu wurde im ersten Schritt ein Polykation entworfen, welches zum einen als Polymerbaustein für das *Layer-by-Layer*-Verfahren dient und zum anderen antibiofouling Eigenschaften durch Zwitterionen und hydrophobe Alkylammonium-Seitenketten aufweist. Mit Hilfe der ATRP konnte erfolgreich ein reproduzierbares Polymer PDMAEMA synthetisiert werden, mit welchem durch unterschiedliche Quarternierungsreagenzien gut einstellbare Copolymere hergestellt werden konnten. Hierzu wurden vier unterschiedliche Copolymere synthetisiert, welche in dem zwitterionischen Anteil von 0 %, 25 % und 50 % variieren. Durch das Kombinieren des Polymers mit 25 % Zwitterion mit 25 % Oktyl-Gruppen wurde eine zusätzliche kontaktbiozide Komponente erfolgreich in das Polykation eingebracht.

Mit dem stark geladenen Polyanion Poly(styrolsulfonat) (PSS) und den neu synthetisierten Polykationen lassen sich gut definierte Mehrschichtensysteme via *Layer-by-Layer*-Technik sowohl auf dem Modellsystem SiWafer als auch auf dem Kathetermaterial PDMS herstellen. Zusätzlich diente das Mehrschichtensystem als Reservoir für das Enzym Cellobiose Dehydrogenase, welches aufgrund seiner speziellen Reaktion mit Biofilm-Polysacchariden antimikrobielles Wasserstoffperoxid erzeugt. Trotz der unterschiedlichen Ladungsdichten des Polykations und der Verwendung von dem Enzym als Polyanion konnte die Substratoberfläche vollständig bedeckt werden und zeigte eine Stabilität von mindestens 10 Tagen in Wasser und synthetischem Urin. Durch die Erhöhung des zwitterionischen Anteils wurden neutralere und hydrophilere Oberflächen erreicht. Jedoch weist die Verwendung des Polykations mit einem zwitterionischen Anteil von 50 % aufgrund der geringen Ladungsdichte ein gedämpftes Schichten-Wachstum in der Ellipsometrie und fehlende Systematik während der Auftragung im Kontaktwinkel auf. Ebenfalls hat die Ladungsdichte Auswirkung auf den Trocknungsvorgang. Aufgrund der schwächeren Wechselwirkungen zwischen den Schichten kam es zu vermehrter Segregation innerhalb des Schichtsystems, was eine Erhöhung der Oberflächenrauheit zur Folge hatte. Trotz der Einbettung des Enzyms in das Schichtsystem konnte es seine Aktivität beibehalten. Jedoch konnte hierbei gezeigt werden, dass die Position des Enzymes in dem Schichtsystem eine wichtige Rolle spielt, da

jede weitere Schicht die Diffusion des Substrates erschwert. Eine zusätzliche antibakterielle Wirkung konnte durch die Einführung von langen hydrophoben Seitenketten in die letzte Schicht erzielt werden. Basierend auf den mikrobiologischen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass nicht nur die bakterielle Adhäsion im Vergleich zur Referenzprobe um 60 % reduziert werden konnte, sondern auch eine Tötung der adhärenierten Bakterien auf der Oberfläche stattfand.

Zusammenfassend konnten zwei einfach durchzuführende Methoden zur Neugestaltung von PDMS-Kathetermaterial etabliert werden. Die antifouling und antimikrobielle Beschichtung des Materials führt zu einer deutlichen Reduzierung der Biofilmbildung, wodurch das Risiko einer nosokomialen Infektion durch die Verwendung von Blasenkathetern verringert werden könnte.

ABSTRACT

For numerous biomedical materials such as prosthetic devices, implants, contact lenses and catheter, fouling on surfaces is a serious risk of infections. One of the most abundant complications in hospitals is caused by catheter-associated urinary tract infections. The aim of the thesis was to develop a strategy to achieve innovative coatings for silicone catheter using novel tailored copolymers. In this thesis primarily a low fouling surface was created using an electrostatically induced hydration layer based on zwitterionic sulfobetaine polymers. Furthermore the low fouling surface was combined with the enzyme Cellobiose dehydrogenase to achieve an antimicrobial effect and with quaternary ammonium compounds to achieve a contact biocide effect.

One functionalization strategy is to integrate copolymers into the catheter surface with help of the adsorption/entrapment mechanism. For this a well-defined amphiphilic diblock copolymer was synthesized; consisting of a hydrophobic anchor block, which is compatible with the silicone material, and a functional block of zwitterionic sulfobetaine. Therefore a macroinitiator of polydimethylsiloxane (PDMS) was reacted with 2-(dimethylamino)ethyl methacrylate (DMAEMA) by atom transfer radical polymerization (ATRP). The resulting precursor polymers were converted into sulfobetaines by a reaction with 1,3propanesultone, to yield PDMS-*block*-PDMAEMA with molar masses of 7 kDa to copolymers with molar masses of 12 kDa and with a mass content of 82% to 90% of zwitterion blocks. With these block copolymers the silicone catheter material was successfully modified via the non-covalent adsorption/entrapment mechanisms, it became significantly more hydrophilic and remained unchanged for longer than 10 days. The observation of the zeta-potential measurement and the crystal violet test for measuring the biofilm formation indicated no complete wetting of the silicone material by water. Nevertheless, in comparison to the reference sample a significant reduction was detected in the adherence of the protein BSA. There was a dependency of the chain length of the functional component; the modification with the largest polymer achieved up to 90 % less BSA adsorption in comparison to the reference sample.

Another functionalization strategy was done via a layer-by-layer technique. Hence a novel polycation was designed which served as a polymer component for the layer-by-layer technique and provided at the same time antibiofouling zwitterions and antimicrobial

hydrophobic side chains. First poly(2-(dimethylamino)ethyl methacrylate) (PDMAEMA) was synthesized by atomic transfer radical polymerization (ATRP) to obtain an adjustable molecular weight and a low polydispersity. Throughout the process two different quaternizing reagents yielded four different copolymers which varied in the zwitterionic fraction between 0 %, 25 % and 50 %. Alternatively the polycation with 25 % zwitterionic fragment was successfully combined with a contact biocidal component of 25 % octyl-ammonium side chains.

With the strongly charged polyanion poly(styrenesulfonate) (PSS) and the novel synthesized polycations it is possible to prepare well-defined multilayer systems via layer-by-layer technique on the model system Si-wafer as well as on the catheter materials. Furthermore the multilayer systems were successfully used as reservoir for the enzyme Cellobiose dehydrogenase (CDH) which produces antimicrobial hydrogen peroxide by the reaction with biofilm polysaccharides. The observation of absence of systematic changes in the contact angle and the attenuated growth in ellipsometry when using the polycation with 50% zwitterions indicated deviations from strictly regular growth due to reduced charge density. However, the combination of all data provides strong evidence that with up to 50% zwitterion fraction in the polycation the critical charge density limit which is needed to obtain significant layer growth has not yet been reached. All surfaces remained stable for up to 10 days in water and in synthetic urine. By increasing the zwitterionic fraction, surfaces became more neutral and hydrophilic. The charge density had a pronounced effect on the drying process as well. Lower charge density caused less interaction between the layers in the multilayer system, which resulted in more segregation within the layer system during the drying process, especially by simple air drying. This resulting roughness of the surface can be reduced by freeze drying. This multilayer system was also successfully used as reservoir for enzyme immobilization. CDH which is able to produce H_2O_2 in the presence of polysaccharides was effectively embedded in the multilayer system and could preserve its enzyme activity. For that it was shown that the layer architecture, i.e. the location of the enzyme in the layer, has an influence on the activity of enzymes; this could be linked to substrate diffusion hindrance. The CDH functionalized catheter material exhibited more antimicrobial activity after freeze drying. An additional antibacterial effect could be obtained by introducing QAC groups. Based on the biological results presented that the multilayer

films can not only reduce the bacterial adhesion down to 40% relative to uncoated PDMS but also kill the bacteria adhered onto the surface.

In summary, two easy to perform modifications for rearrangement of silicone catheter material were established. The antifouling and antimicrobial coating of the material leads to a significant decrease of biofilm formation. In this way the risk of a nosocomial infection through the application of urinary catheters could be reduced.

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Abkürzung	Bedeutung
A	Fläche
AFM	Rasterkraftmikroskopie
APTS	3Aminopropyltriethoxysiloxan
ATRP	Atom Transfer Radical Polymerization
-b-	-block-
BCA	Bicinchoninsäure
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
CDCl ₃	deuteriertes Chloroform
CDH	Cellobiose Dehydrogenase
CLSM	Konfokale Laser Scanning Mikroskopie
CMC	kritische Mizellkonzentration
-co-	Statistisches Copolymer
D	Dispersiver Hansen-Löslichkeitsparameter
D ₂ O	deuteriertes Wasser
DCM	Dichlormethan
DMAEMA	(2-Dimethylaminoethyl)methacrylat
DMF	Dimethylformamid
EA	Elementaranalyse
EPS	extrazelluläre polymere Substanzen
eq	Äquivalent
et al.	et alii / et aliae /et alia („und andere“)
EtOH	Ethanol
G'	Speicherm modul
G''	Verlustmodul
GPC	Gelpermeationschromatographie
H	Wasserstoffbrückenbindungsbeitrag des Hansen-Löslichkeitsparameters
HMTETA	1,1,4,7,10,10-Hexamethyltriethylentetramin
I	Strömungsstrom
IR	Infrarot
k _{act}	Geschwindigkeitskonstante der Aktivierung
k _{deact}	Geschwindigkeitskonstante der Deaktivierung
k _{termination}	Geschwindigkeitskonstante der Terminationsreaktionen
L	Länge
M	Monomer
m	Masse
MeOD	deuteriertes Methanol
MeOH	Methanol
MHz	Megahertz
M _n	Anzahlgewichtetes Mittel der molare Masse
Mt	Metall
N _A	Avogadro-Zahl
NMR	Kernspinresonanz-Spektroskopie
n _{NW}	Anzahl von Netzwerketten pro Volumeneinheit
P	dipolaren Beitrag der Wechselwirkungen in Hansen-

PDADMAC	Löslichkeitsparametern
PDI	Poly(diallyldimethylammoniumchlorid)
PDMAEMA	Polydispersitätsindex
PDMS	Poly(2-Dimethylaminoethyl)methacrylat
PDMS-Cl	Polydimethylsiloxan
PDMS-OH	Makroinitiator Poly(dimethylsiloxan)
PEG	monohydroxyfunktionelle terminierte Poly(dimethylsiloxan)
PEO	Poly(ethylenglykol)
PMPC	Poly(ethylenoxid)
P_n^\bullet	Poly(2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine)
P_n-X	aktive Spezies
PPO	schlafender Spezies
PSS	Poly(propylenoxid)
R	Poly(styrolsulfonat)
RED	universelle Gaskonstante
rpm	Relative energy distance
SAM	Umdrehungen pro Minute
SDS	selbstorganisierende Monoschicht
Si-Wafer	Natriumlaurylsulfat
SPE	Silizium-Wafer
T	Dimethyl(methacryloyloxyethyl)ammoniumpropansulfonat
TBT	Temperatur
TGA	Tributylzinn
THF	Thermogravimetrische Analyse
TREN	Tetrahydrofuran
vgl.	Tris(2-aminoethyl)amin
wt%	vergleiche
ζ	Gewichtsprozent
η	Zeta-Potential
ξ	Viskosität
ε_0	mittlere Maschenweite
ε	Dielektrizitätskonstante
	relative Dielektrizitätskonstante

1 Einleitung

Jedes mit Wasser in Kontakt tretende Material wird in kürzester Zeit von den im Wasser befindlichen organischen Verbindungen und Mikroorganismen besiedelt. Diese bilden bereits nach einigen Stunden hoch komplexe und vielfältige Biofilme aus. Da diese Biofilme einen effizienten Schutz gegen äußere Einflüsse wie Scherkräfte, Umgebungsänderungen oder sogar gegenüber Antibiotika bieten, handelt es sich hierbei um die bevorzugte Lebensform von Mikroorganismen. Allerdings verursacht der Bewuchs von Oberflächen ernsthafte Probleme in technischen Anlagen, der Schifffahrt und bei biomedizinischen Anwendungen.

Die daraus resultierende Problematik ist dabei sehr mannigfaltig¹. So führt der Biofilm zu einer rauerer Oberflächenstruktur, was einen erhöhten Reibungswiderstand bei Transportvorgängen wie beispielsweise in Rohrleitungen oder an Schiffsrümpfen verursacht. Bei Rohrsystemen tritt zusätzlich noch eine Verminderung der Querschnittsfläche auf. Zudem minimiert das Biofouling die Effizienz von Wärmeaustauschern drastisch und führt in der Membrantechnik zu erhöhten Filtrationswiderständen. Dies sind nur wenige Beispiele, welche aufgrund der Reduzierung der Leistungsfähigkeit, der resultierenden Reinigungskosten, aber auch durch die Kontamination von Rohstoffen und Produkten erhebliche wirtschaftliche Probleme verursachen.

Die nachteilige Auswirkung der bakteriellen Biofilmbildung auf die menschliche Gesundheit ist ebenfalls ein wesentlicher Grund zur Besorgnis. In der Gesundheitsbranche sind mikrobielle Biofilme eine ewige Quelle nosokomialer Infektionen² und sorgen weltweit für Komplikationen in Pflegeheimen und Krankenhäusern. Dies führt zu deutlichen Erhöhungen der Kosten für die Gesundheitsversorgung, da der Einsatz von Antibiotika und die Dauer der Krankenhausaufenthalte heraufgesetzt werden. Über 60 % aller Krankenhausinfektionen originieren von Biofilmen ausgehend von medizinischen Produkten wie Kathetern, Kontaktlinsen und Prothesen³.

Dabei zählen mit circa 40 % die Katheter assoziierten Harnwegsinfektionen (im Englischen *catheter associated urinary tract infectionen*, CAUTI) mit Abstand zu den häufigsten Krankenhausinfektionen⁴⁻⁷. Zwischen 15 % und 25 % aller Krankenhauspatienten erhalten im Verlauf des Krankenhausaufenthaltes einen Blasenkatheter^{4,8,9}. Durch die Adhäsion von

Mikroorganismen auf dem Katheter und der daraus folgenden Biofilm-Bildung entlang des Kathetermaterials, ist das Risiko einer damit verbundenen Infektion bei Katheterisierung besonders hoch. Daher spielt die Dauer der Katheterisierung eine entscheidende Rolle. So erhöht jeder Behandlungstag das Risiko einer Infektion durch den transurethral gelegenen Blasenkatheter um 3 % bis 7 %^{8,10}. Bei den Infektionsquellen handelt es sich größtenteils um endogene Ursachen, jedoch gelangen immer wieder auch Keime über das Personal zum Patienten aufgrund von mangelhafter Desinfizierung oder unsteriler Legetechniken.

Für die Behandlung von CAUTI werden Antibiotika verabreicht. Jedoch sollte der Gebrauch von Antibiotika deutlich reduziert werden, um die Bildung multiresistenter Bakterien möglichst gering zu halten. Dies dient nicht nur der Gesundheit des Patienten, sondern entlastet durch niedrigere Behandlungszeiten und kürzere Krankenhausaufenthalte auch das Gesundheitssystem.

Aufgrund der Zunahme des Durchschnittsalters unserer Bevölkerung wächst der Bedarf an länger innewohnenden Blasenkathetern stetig an. Aus diesem Grund ist es dringend erforderlich wirksame Strategien zur Vermeidung von Biofouling auf Kathetern zu schaffen. Durch gezielte Oberflächenfunktionalisierung des Katheters können diesem neue Eigenschaften verliehen werden, ohne die wichtigen physikalischen Eigenschaften des Materials zu beeinflussen. Im Fokus dieser Arbeit steht die Modifizierung der Silikonoberfläche mit Zwitterionen, sodass die bakterielle Besiedlung gehemmt wird und somit das Wachstum eines Biofilms verhindert wird. Kombiniert werden die Antifouling Eigenschaften des Zwitterions sowohl mit immobilisierten Enzymen, welche eine antibakterielle Wirkung aufweisen, als auch mit quarternären Ammoniumverbindungen, die der Oberfläche kontaktbiozide Eigenschaften verleihen.

2 Grundlagen

2.1 Blasenkatheter

Schon frühe Dokumente aus dem dritten Jahrhundert vor Christus belegen, dass es bereits zu dieser Zeit Methoden zur Behandlung einer Störung der Blasenfunktion gab. So setzte damals Erasistratus, ein griechischer Physiologe, zur Behandlung von Harnverhalt ein Metallrohr ein und prägte den Namen Katheter¹¹. Seit dem wurden unterschiedliche Materialien und Konstruktionen von Blasenkathetern verwendet. Erst im 19. Jahrhundert wurden die ersten elastischen Katheter angefertigt, die dann 1853 durch den Entwurf eines Ballonkatheters von Dr. Frederick B. Foley revolutioniert wurden¹². Bei diesem auch international als Foley-Katheter bekannten Katheter handelt es sich um einen flexiblen Schlauch mit integrierter Drainage, der zu einem Ballon führt. Mit Hilfe dieses Ballons kann der Katheter, wie in der Abbildung 1 dargestellt, dauerhaft in der Blase fixiert werden.

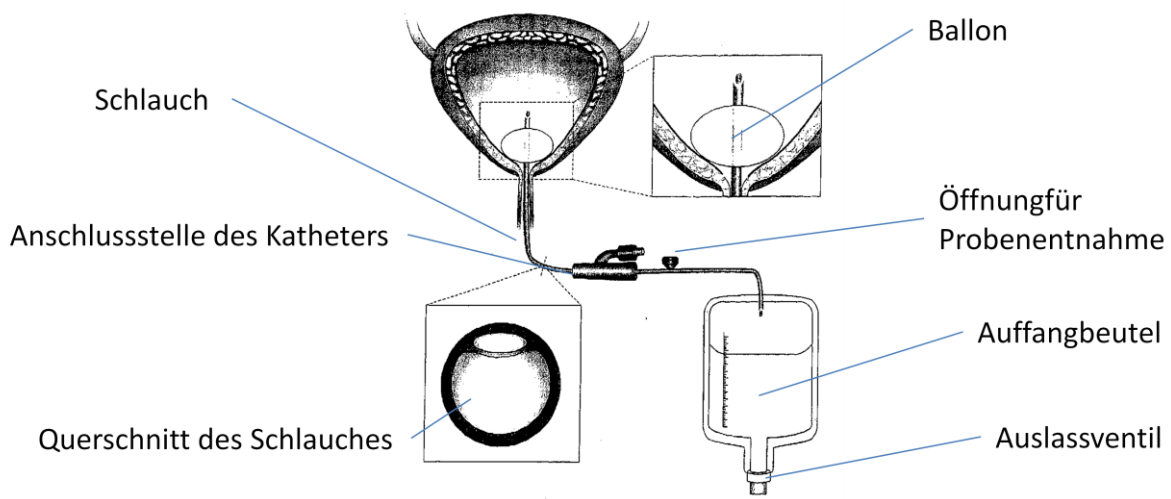


Abbildung 1: Schematischer Aufbau eines Blasenkatheters in einer Harnblase⁶.

Bei dem Ballon Material handelt es sich um ein sehr elastisches Material, welches nach der Platzierung in der Harnblase mit steriler Kochsalzlösung gefüllt wird. Hierzu befindet sich im Katheterschlauch, wie im Querschnitt des Schlauches zu erkennen, ein zweiter Zugang, der mit einem Ventil verschlossen ist. Das große Lumen dient hierbei der Urin Ableitung und das kleine Lumen dem Zuführen und Ablassen der Ballon-Flüssigkeiten. Über das große Lumen gelangt der Urin anschließend in einen Sammelbehälter. Es gibt eine Vielzahl unterschiedlichster Kathetermaterialien. So wird für Einmalkatheterisierungen häufig

Polyvinylchlorid aufgrund seiner kostengünstigen Herstellbarkeit verwendet. Dieses Material ist allerdings nicht für die Dauerkatheterisierung geeignet¹³. Die Foley-Katheter werden meistens aus Latex, Polyurethan oder Silikon hergestellt. Jedoch hat der Katheter aus Latex eine weitaus unebenere Oberfläche, was eine mikrobielle Anhaftung fördern kann⁶. Weiterhin löst bei vielen Patienten der Kontakt mit Latex eine allergische Reaktion aus. Eine Alternative hierzu ist der Polyurethankatheter. Dieser weist jedoch eine geringere Biokompatibilität auf als Silikonkatheter. Silikon ist das am weitesten verbreitete elastische Polymer für medizinische Anwendungen. Das Material zeichnet sich durch seine einfache Handhabung, gute Biokompatibilität und niedrigen Herstellungskosten aus und ist dabei ungiftig. Aufgrund dieser Eigenschaften ist es hervorragend für Katheterisierungen geeignet.

2.1.1 Silikone

Silikone sind Polymere mit einem Grundgerüst an alternierenden Silizium- und Sauerstoffatomen. Zu den einfachsten Silikonen gehört das Polydimethylsiloxan (PDMS). Bei diesem besitzt die Silizium-Sauerstoff-Hauptkette an jedem Siliziumatom noch zwei Methylgruppen. Des Weiteren sind noch eine Vielzahl anderer chemischer Modifikationen und Vernetzungen möglich. So kann das Silikon je nach Molekulargröße und Vernetzungsgrad flüssig bis fest vorliegen. Durch die Kombination von anorganischen und organischen Bestandteilen besitzt das Silikon einzigartige Eigenschaften. Für eine hohe Beständigkeit gegenüber Temperatur, UV-Strahlung und Chemikalien sorgt die starke Bindungsenergie zwischen Silizium und Sauerstoff. Eine weitere Besonderheit des Silikons liegt in der niedrigen Rotationsbarriere der Silizium-Sauerstoff-Bindung¹⁴, der breiten Variabilität des Si-O-Si-Winkels¹⁵ und der schwachen Wechselwirkung zwischen den Ketten, wodurch die Polymerketten ausgesprochen flexibel und elastisch sind. Silikonkautschuk gehört aufgrund seines mechanisch-thermischen Verhaltens zu den Elastomeren. Elastomere sind formfest und lassen sich oberhalb der Glasübergangstemperatur elastisch verformen. Silikon besitzt eine niedrige Glasübergangstemperatur im Bereich von -127 °C.

Zusätzlich zu der Einstellung der Molekulargröße und des Vernetzungsgrades werden bei Silikonkautschuk oftmals verstärkende Additive, sogenannte Füllstoffe, hinzugefügt, da die Festigkeit anderen Falls nicht für die Anwendung ausreicht. Zu den Bekanntesten gehört das

Siliziumdioxid, welches die Klebrigkeit des Silikons reduziert, seine Härte erhöht und somit die mechanische Festigkeit verbessert¹⁶. Weitere Füllstoffe können auch andere Eigenschaften beeinflussen. So erzielt beispielsweise die Zugabe von Ruß eine elektrische Leitfähigkeit, Titandioxid verbessert die Dielektrizitätskonstante und mit Bariumsulfat kann die Strahlenundurchlässigkeit erhöht werden.

Durch die Einzigartigkeit und der hohen Vielfalt an unterschiedlichen Vernetzungsgraden und Füllstoffen wird Silikon in vielen unterschiedlichen Bereichen angewendet. So werden Silikone aufgrund ihrer hohen Temperatur- und UV-Beständigkeit häufig in der Luftfahrtindustrie verwendet. Weiterhin findet sich Silikon in der Elektronik als elektrische Isolierung oder als Kleb- und Dichtstoff wieder. In der Bauindustrie, bei Haushaltsgeräten und Reifen werden Silikone aufgrund ihrer langfristigen Haltbarkeit und ihrer wasserabweisenden Eigenschaften verwendet¹⁶. Durch ihre ausgezeichnete Biokompatibilität kommen Silikone zudem in zahlreichen Lebensmitteln, Kosmetikprodukten und der Medizintechnik zum Einsatz.

2.2 Biofilmbildung und Biofouling

Unter Biofilmbildung versteht man die Anhaftung von Mikroorganismen auf einer Oberfläche, welche von einer selbstproduzierten extrazellulären polymeren Substanz umgeben ist. Bei dem Biofilm handelt es sich um die bevorzugte Lebensform von Mikroorganismen, welche nahezu ubiquitär auf der Erde vorkommt¹⁷. Diese Form der Aggregation an der Oberfläche gewährt eine enorm hohe mechanische Stabilität. Zudem gewährleistet diese einen sehr effizienten Schutz gegen äußere Einflüsse wie zum Beispiel Temperatur oder pH-Schwankungen oder sogar auch gegenüber Antibiotika und ermöglicht den Biofilm-Organismen somit ein langfristiges synergistisches Zusammenleben.

Die Entstehung und Entwicklung eines Biofilms ist sehr komplex und wird modellhaft in 5 einzelner Phasen unterteilt. Diese sind schematisch in Abbildung 2 dargestellt.

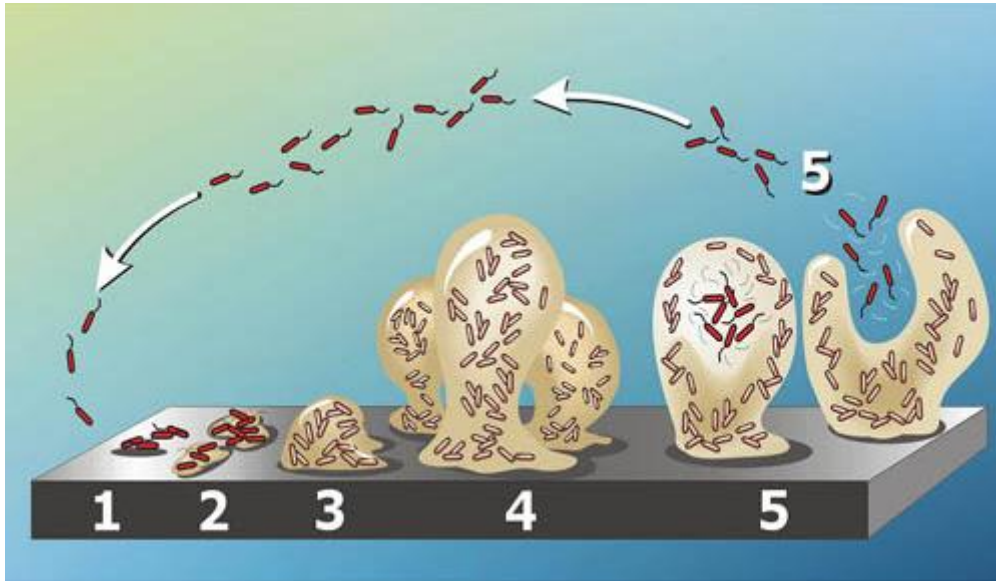


Abbildung 2: Schematische Darstellung der Biofilmentwicklung. 1) Zellen adhären an einer Oberfläche; 2) Transport zur und an der Oberfläche mit reversibler Adhäsion und Produktion extrazellulärer polymerer Substanz; 3) irreversible Adhäsion; 4) Biofilmwachstum, mehrere Schichten übereinander; 5) Alterung und Ablösung einzelner Bestandteile ¹⁸.

In der ersten Phase erfolgt die Adsorption von Makromolekülen, wie zum Beispiel Polysacchariden, Proteinen und Proteoglykanen, an der Oberfläche, welche einen sogenannten *conditioning* Film bilden ¹⁹. Aufgrund der mit organischen Substanzen benetzten Oberfläche können in der nächsten Phase die Mikroorganismen besser an der Oberfläche anlagern. Dabei handelt es sich zunächst um eine reversible Adhäsion, welche im Wesentlichen durch physikalische Kräfte wie elektrostatische Wechselwirkungen und van-der-Waals-Kräfte gehalten werden. Die Mikroorganismen können sich somit aktiv aufeinander zu bewegen und bilden anschließend in der dritten Phase Mikrokolonien. Durch das Zusammenwachsen erfolgt ein Reifungsprozess, indem extrazelluläre polymere Substanzen (EPS) produziert werden. Dies bedeckt die Organismen vollständig und bindet diese irreversibel an die Oberfläche. Dadurch verschafft dieses dem Biofilm einen guten Schutz vor chemischen und mechanischen Einflüssen. Durch die Speicherung und Versorgung von Nährstoffen in der Matrix wird ein perfektes synergistisches Zusammenleben ermöglicht ²⁰. In der darauf folgenden Phase kommt es zu weiterem Wachstum, wobei durch die Vermehrung und kontinuierliche EPS-Bildung ihr Lebensraum vergrößert wird. So breitet sich die Besiedlung schnell auf der ganze Oberfläche mehrschichtig aus. Zusätzlich entwickeln die Mikroorganismen zur Verständigung ein

interzelluläres Kommunikationssystem, welches als *Quorum sensing* bezeichnet wird²¹. Dadurch erhalten die Mikroorganismen Informationen über die Populationsdichte und Veränderungen in der Umgebung und können je nach Signal darauf reagieren²². Da der Transport von Nährstoffen begrenzt ist, stellt sich in der fünften Phase ein Gleichgewicht zwischen Neubildung und Ablösen von Biofilmteilen ein. Die abgelösten Schwärmerzellen können somit wiederum an neue Oberflächen adhären. Dies führt zu einer schnellen Ausbreitung von Mikroorganismen auf Oberflächen.

Bei der Entstehung des Biofilms an einer Oberfläche handelt es sich um einen sehr komplexen Prozess, wobei die Geschwindigkeit und das Ausmaß der Biofilmbildung von einer Reihe von Faktoren beeinflusst werden. Zur Ausbildung spielt zum einen die Zusammensetzung der Umgebung mit hinreichend Nährstoffen und Mikroorganismen eine Rolle und zum anderen die Oberflächenbeschaffenheit, welche durch ihre Struktur, Ladung, Benetzbarkeit, Hydrophilität und Oberflächenenergie den Biofilm beeinflussen.

2.3 Vermeidung von Biofouling

In vielen Bereichen wie zum Beispiel der Schifffahrt, in der Industrie oder bei medizinischen Anwendungen richtet die unerwünschte Biofilmbildung einen erheblichen gesundheitlichen und finanziellen Schaden an²³. Mit den unterschiedlichsten Strategien und Maßnahmen versucht man die Bildung von Biofilm zu vermeiden oder zu reduzieren. Hierzu zählen beispielhaft die mechanische Zerstörung oder Desinfektions- und Entkeimungsmaßnahmen des Wassers mit Wasserstoffperoxid. Durch verschiedene Oberflächenmodifizierung wird versucht, eine dauerhafte Lösung zur Verhinderung der Akkumulation von Bakterien zu finden. Generell unterscheidet man zwischen zwei unterschiedlichen Möglichkeiten Biofouling auf einer Oberfläche zu vermeiden. Zum einen versucht man die Oberfläche so zu gestalten, dass die Akkumulation von Bakterien stark gehemmt wird. Dabei macht man sich die Tatsache zu nutzen, dass die Oberflächenbeschaffenheit eine erhebliche Rolle bei der Geschwindigkeit der Biofilmbildung spielt. Die andere Möglichkeit ist mit biozidalen Substanzen oder Mikroorganismen Bakterien zu bekämpfen und gegebenenfalls zu beseitigen.

2.3.1 Bakterienabweisende Oberflächen

Eine wichtige Rolle zur Anlagerung von Mikroorganismen an die Oberfläche spielt die Struktur. Je rauer die Oberfläche desto einfacher können sich die Bakterien anlagern. Denn zum einen ist aufgrund der rauen Struktur die Oberfläche vergrößert und zum anderen enthält diese die von Bakterien bevorzugten Stellen zur Besiedelung, an denen die herrschenden Scherkräfte geringer sind^{24,25}. Auf der anderen Seite sind auch unterschiedliche Mikro- und Nanostrukturen nach dem Vorbild von Meeresbewohnern für eine geringere Akkumulation von Mikroorganismen verantwortlich. Hierbei spielt die Größe und Struktur eine wichtige Rolle, da die mögliche Menge an Kontaktfläche entscheidend für die Befestigung der Mikroorganismen ist. Dies wird in der sogenannten Angriffspunkt-Theorie beschrieben²⁶. Für eine effektive Adhäsionsprävention gilt, dass die Strukturunebenheiten geringfügig kleiner sein sollten als die abzuhaltenden Bakterien.

Neben anderen chemischen und physikalischen Einflüssen konnte gezeigt werden, dass die Meeresbewohner mit ihrer Oberflächen-Topographie generell einen Antifouling Erfolg aufweisen²⁷. Aber auch die elektrostatische Abstoßung zwischen Oberfläche und Bakterium kann die Akkumulation beeinflussen. Gottenbos et al.²⁸ bewiesen, dass die anfängliche bakterielle Adhäsion von *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* und *Pseudomonas aeruginosa* auf einer negativen geladenen Poly(methacrylat) Oberfläche verzögert wird. Aufgrund der elektrostatischen Wechselwirkung der Oberfläche mit den gram-negativen Bakterien wird das Wachstum auf der Oberfläche verhindert. Ein weiterer wichtiger Parameter ist die Hydrophilisierung der Oberfläche, worauf in Kapitel 2.3.3 näher eingegangen wird. Dabei ist festzuhalten, dass es sich bei allen Methoden um bakterienabweisende Beschichtungen handelt und der Oberfläche kein 100 %iger Schutz gegeben werden kann. Ist erstmals eine kleine Menge an Mikroorganismen auf der Oberfläche, führt dies zur weiteren Adhäsion und Vermehrung des unerwünschten Biofilms²⁹.

2.3.2 Bakterientötende Oberflächen

Eine weitere Möglichkeit zur Verhinderung von Biofilm ist der Versuch die Oberfläche mit bioziden Substanzen oder Mikroorganismen zu beschichten. Biozide werden als chemische

Substanzen definiert, die lebende Organismen unschädlich machen oder sogar ganz beseitigen. Dabei ist der Einsatz von Bioziden-Produkten bereits sehr vielfältig, so zum Beispiel im medizinischen Bereich durch Desinfektionsmittel oder Antiseptika. Aber auch bei Wasseraufbereitungsanlagen, in der Lebensmittelchemie oder Viehzucht werden bioziden Stoffe eingesetzt, um das Wachstum potenzieller schädlicher Mikroorganismen zu verhindern³⁰. Dabei gibt es eine Vielzahl an oxidierenden und nicht-oxidierende Ansätzen von bioziden Wirkungen. Zu den oxidierende Bioziden gehören beispielsweise Chlor und Brom, welche ein breites Anwendungsspektrum aufweisen und schon mit niedrigeren Konzentrationen die Biofilm-Matrix schwächen³¹. Jedoch entstehen dabei toxische Nebenprodukte. Umweltfreundlich dagegen ist der Einsatz von Wasserstoffperoxid, welches lediglich zu Wasser und Sauerstoff zerfällt. Als nicht-oxidierendes Biozid zählt beispielsweise Formaldehyd, welches aufgrund der geringen Kosten und des breiten antimikrobiellen Spektrums angewendet werden kann.

Bei der Verwendung von Bioziden an Oberflächen ist nicht nur der antimikrobielle Wirkstoff, sondern auch der Wirkmechanismus ein wichtiger Aspekt. Hierbei wird zwischen dem *Leaching* System, bei dem sich das Biozid aus der Beschichtung kontinuierlich löst und dem kontaktaktiven *No-Leaching* System, bei dem die Wirksamkeit des Biozids erst in direkter Umgebung der Oberfläche entfaltet wird, unterschieden. Der bekannteste Einsatz von Bioziden auf Oberflächen ist wohl die Verwendung von Tributylzinn (TBT) in Antifoulingfarben für die Schifffahrt, welches sehr erfolgreich den Bewuchs von Muscheln und Algen verhindert³². Dies zählt zu den *Leaching* Systemen und belastete durch die ständige Freisetzung von TBT aus dem Anstrich die Flüsse und Meere. Die Organozinnverbindungen führten zu Missbildungen bei Schalentieren und wurden in Bioakkumulation in einigen Enten, Robben und Fischen wiedergefunden, weshalb die Verwendung dieser Beschichtung 2008 weltweit verboten wurde³³. Aufgrund dessen beruhen die modernen Antifouling Beschichtungen auf kontaktaktiven Systemen, die ihre biozide Wirksamkeit nur bei Kontakt mit den Mikroorganismen entfalten. Durch das zielgerechte Einwirken bleibt das Ökosystem stabil. Hierfür eignen sich besonders antimikrobielle Peptide, kationische Antiseptika und Antibiotika.

Zum Beispiel sind Antibiotika ein weitverbreitetes Arzneimittel gegen bakterielle Infektionen. Es handelt sich um Stoffe, die entweder das Bakterienwachstum hemmen (bakteriostatika) oder die Bakterien beispielsweise durch Auflösen der Zellwände abtöten (bakterizid). In technischen Systemen spielen Antibiotika nur eine untergeordnete Rolle. Für den Einsatz bei medizinischen Anwendungen wie zum Beispiel bei Implantaten sind Antibiotika hingegen zur Vorbeugung von Infektionen recht interessant. So sorgte die kovalente Bindung des Antibiotikums Vancomycin an Titan für eine hervorragende Reduzierung der Keimzahlen von *Staphylococcus aureus*³⁴. Durch die steigende Anzahl an Antibiotikabehandlungen nimmt auch die Anzahl an resistenten Bakterien stetig zu. Dies ist eine allgemeine Problematik von bioziden Oberflächenmodifikationen, da Biofilmorganismen selbst unter den ungünstigsten Umweltbedingungen erfolgreich überleben und nach gewisser Zeit Resistenzeigenschaften aufweisen können.

Für ihre schädigende Wirkung gegenüber Bakterien, Pilzen und Viren sind Metallionen wie zum Beispiel Silber bereits seit einigen Jahrhunderten bekannt. Zahlreiche Studien belegen, dass Silberionen bereits bei niedriger Konzentration eine biozide Wirkung bei vielen Gram-positiven und Gram-negativen Bakterien aufweisen^{35,36}. Es wird angenommen, dass die antimikrobielle Wirkung durch die Reaktion von Silberkationen mit essentiellen Sulfid- und Amino-Gruppen von bestimmten Aminosäuren und Proteinen zustande kommt, wodurch das biologische System gestört und eine Inaktivierung der Enzyme und Bakterien hervorgerufen wird³⁷. Ein großer Vorteil ist, dass die Wirkung langanhaltend ist und dass es kaum zur Ausbildung von resistenten Bakterien kommt. Da Silber für den Menschen in geringer Dosis ungefährlich ist, findet es bereits in vielen Bereichen Anwendung. Hierzu zählt auch die Verwendung silberhaltiger Beschichtungen bei Blasenkathetern (siehe Kapitel 2.3.6).

2.3.3 Antifouling-Strategie

Von großem Interesse ist derzeit die Entwicklung von Oberflächen, welche gegen Proteinadsorptionen resistent sind. Die am häufigsten verwendete Substanz ist dabei Polyethylenglykol (PEG), welches bereits in den 1990er Jahren ausführlich von Jeon et al. untersucht wurde³⁸. Die Antifouling-Strategie mit PEG beruht auf dessen ausgeprägten

Wechselwirkungen der Oberfläche mit Wassermolekülen, wodurch diese recht schwer durch potentielle Adhäsive zu dehydrieren sind. Der Nachteil bei PEG liegt in dessen Instabilität, da es die Tendenz zur oxidativen Spaltung der Etherbindungen in Gegenwart von Sauerstoff aufweist³⁹. Somit ist es wichtig, alternative Moleküle zu entwerfen. Für eine hervorragende Proteinresistenz sind die Anwesenheit von polaren funktionellen Gruppen, eine neutral geladene Oberfläche, gute Benetzbarkeit (für Wasser) und die Abwesenheit von Wasserstoffbrücken-Donor-Gruppen wichtig^{40,41}. Inspiriert von den Phospholipiden an der äußeren Oberfläche von Zellmembranen, welche hervorragende Antifouling-Eigenschaften gegenüber dem Umfeld aufweisen³³, wurden ein Polyzwitterion Phosphorylcholine (PC) an modifizierten Oberflächen funktionalisiert. Hierbei werden der zwitterionischen PC-Einheit nicht-thrombogene Eigenschaften zugeschrieben³⁴. Aufgrund der hohen Mobilität und der nicht-kovalenten Bindungen erwiesen sich Phospholipide selbst als physikalisch und chemisch instabil an Oberflächen⁴⁴. Durch die Synthese des Monomers 2-Methacryloyloxyethyl Phosphorylcholin (MPC) von Ishihara konnten somit vielfältige PC-enthaltende Polymere hergestellt werden⁴⁴.

Auch bei den Polyzwitterionen beruht das Prinzip auf der Bildung eines Wasserfilms an der Oberfläche. Wie in Abbildung 3 dargestellt, wird der Kontakt zwischen Mikroorganismen und Oberfläche verhindert.

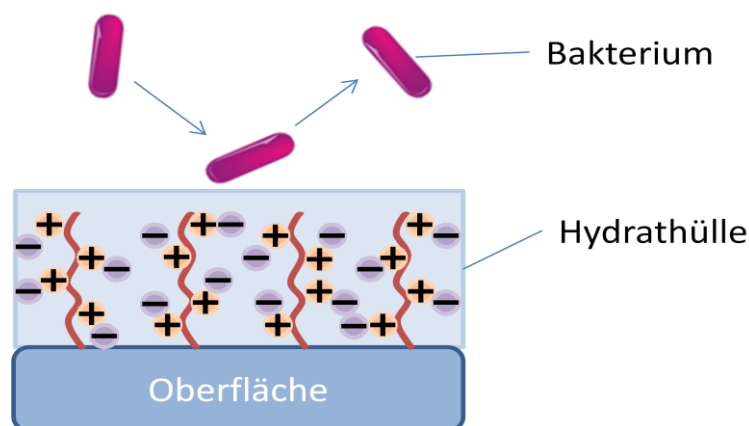


Abbildung 3: Schematische Darstellung der Antifouling-Beschichtung: Verhinderung der Adhäsion von Bakterien durch gebildete hydratisierte Polymerschicht nach Jeon et al³⁸.

Im Vergleich zu PEG-basierten Beschichtungen basiert die Hydratation bei den Polyzwitterionen jedoch nicht hauptsächlich auf Wasserstoffbrückenbindungen, sondern auf

elektrostatisch induzierten Wechselwirkungen⁴⁵. Durch die stärkere Bindung zu den Wassermolekülen, besitzen die zwitterionischen Polymere einen besseren Antifouling-Wirkungsgrad⁴⁶. Ein weiterer Vorteil der zwitterionischen Materialien ist, dass es ein breites Spektrum von unterschiedlichen Zwitterionen umfasst. Einige wichtige Aspekte dieser chemischen Vielfalt werden von Mi und Jiang zusammengefasst⁴⁷. Zum einen kann die Wahl der ionischen Gruppen variiert werden, wie zum Beispiel bei den anionischen Gruppen Carboxylat-, Sulfonat- oder Phosphat-Gruppen sowie kationischen Gruppen wie quaternäre Ammonium- und Phosphonium-Gruppen^{48,49}. Zum anderen kann auch die räumliche Anordnung der positiven und negativen Ladungen verändert werden. Dabei können die geladenen Gruppen in getrennten Monomeren⁵⁰ oder in unterschiedlichem Abstand in der gleichen Monomereinheit vorliegen⁵¹. Durch diese strukturelle Vielzahl stieg das Interesse an Zwitterionen zunehmend in den letzten Jahren in den unterschiedlichsten Anwendungsgebieten, so zum Beispiel bei marinen oder biomedizinischen Anwendungen.

2.3.4 Antimikrobielle Enzyme

Eine weitere Strategie gegen Biofouling beruht auf Bemühungen Antifouling-Oberflächen mittels biobasierter antimikrobieller Lösungen zu entwickeln. Hierzu werden zunehmend Enzyme gegen mikrobielle Systeme genutzt. Es gibt dabei eine breite Anzahl an unterschiedlichen Enzymen. In der Übersichtsarbeit von Thallinger et al. werden unterschiedliche antimikrobielle und antibiofilm Enzyme beschrieben². Die proteolytischen Enzyme gehören zu einer Gruppe antimikrobieller Enzyme, die schon erfolgreich in Beschichtungen eingebaut wurden. Diese Enzyme katalysieren die Hydrolyse von Peptidbindungen und verleihen der Oberfläche eine proteinabbauende Eigenschaft. Eine der ersten erfolgreich hergestellten Antifouling-Beschichtungen mittels Proteasen ist die Immobilisierung von *Pronase* und α -*Chymotrypsin* mittels Sol-Gel-Verfahren oder durch kovalente Bindung an einer PDMS Oberfläche von Kim et al.⁵². Die enzymhaltigen Proben zeigten weitaus weniger Proteinadsorption bei zunehmenden proteolytischen Aktivitäten der Beschichtung. Eine weitere Möglichkeit von antimikrobiellen Enzymen ist der Einsatz von polysaccharidhydrolysierenden Enzymen, wie Lysozym, Dispersin B und Amylase. Dabei besitzen diese Enzyme die Aufgabe der Verdauung zellfremden Materials. Aufgrund der

Möglichkeit zur Erhöhung der Haltbarkeit von Lebensmitteln weckt die Entwicklung von immobilisiertem Lysozym in Verpackungsmaterial wachsendes Interesse². Eine weitere Möglichkeit ist die Verwendung von oxidativen Enzymen. Ihr Verteidigungssystem besteht darin, eine große Menge an Oxidantien zu produzieren. Zu den oxidativen Enzymen gehört beispielsweise Myeloperoxidase, Lactoperoxidase, Glukose-Oxidase und Cellulose-Dehydrogenase. Bereits 1928 berichtete Müller über die Aktivität des Enzymes Glukose-Oxidase, welches die Oxidation von β -D-Glukose zu Gluconolacton unter Entstehung von Wasserstoffperoxid katalysiert^{53,54}. Die antimikrobielle Eigenschaft basiert dabei auf der Produktion von Wasserstoffperoxid, welches ein starkes Oxidationsmittel ist und als Antiseptikum bereits mit geringen Konzentrationen (0.25 % - 3 %) Wirkung zeigt⁵⁵. Dabei wird angenommen, dass Wasserstoffperoxid nicht das hauptsächliche Bakterizid ist, sondern das daraus entstehende Hydroxid-Radikal, welches mit Nukleinsäuren, Proteinen und Lipiden der Organismen reagieren kann. Direkt kann Wasserstoffperoxid mit einigen Ketosäuren reagieren und verursacht eine Zellmembran-Auflösung³⁰. Weiterhin schwächt Wasserstoffperoxid die EPS und sorgt für eine gute Biofilm-Ablösung³¹. Aufgrund der bewiesenen Abtötung von Mikroorganismen und Krankheitserregern, welche das Verderben von Lebensmitteln fördern, wird die immobilisierte Glukose-Oxidase zunehmend für die Anwendung von Lebensmittelverpackungen untersucht². Ein weiteres vielversprechendes Enzym ist das Cellulose-Dehydrogenase (CDH), welches ähnlich wie Glukose-Oxidase Wasserstoffperoxid als antimikrobiellen Agenten produziert. Dabei handelt es sich um ein extrazelluläres Flavocytochrom und es wird aus einer Reihe aus holzabbauenden und pflanzenpathogenen Pilzen unter cellulolytischen Bedingungen hergestellt⁵⁶. CDH verwendet als Substrat eine Vielzahl an Celloooligosacchariden. Hierzu gehört auch das bakterielle extrazelluläre Polysaccharide, welches Hauptbestandteil der extrazellulären polymeren Substanz (EPS) ist und Schutz gegen Mikroorganismen aus dem menschlichen Abwehrsystem und antibakteriellen Wirkstoffen gibt⁵⁵. Wie in Abbildung 4 ersichtlich, kann durch die Immobilisierung von CDH an medizinischen Oberflächen das Wachstum von Biofilm gehemmt werden.

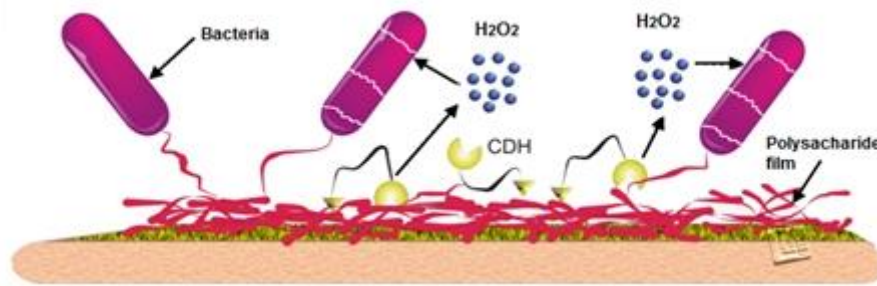


Abbildung 4: Schematische Abbildung der Funktionsweise des Enzyms Cellulose-Dehydrogenase (CDH), welches spezialisiert an Biofilm Polysacchariden bindet und Wasserstoffperoxid generiert ⁵⁷.

Eine weitere Möglichkeit antimikrobielle Enzyme gegen Biofouling einzusetzen, ist die Verwendung von so genannten *Quorum-Quenching*-Enzymen. Das Prinzip beruht darauf das Kommunikationssystem unter den Bakterien zu stören. *Quorum Sensing* besitzt die Fähigkeit mittels Signalmolekülen die Populationsdichte zu bestimmen und dient der Regulation der Genexpression von Mikroorganismen ⁵⁸. Durch die Inaktivierung der Signalmoleküle seiner eigenen Produktion kann die Biofilmbildung unterdrückt werden. Zur Verschlechterung des *Quorum-Sensing* führen die am besten untersuchten *Quorum-Quenching*-Enzyme Lactonasen und Acylasen ⁵⁹, welche erfolgreich die Kommunikation zwischen den Bakterien unterbrechen.

2.3.5 Kontaktbiozide Strategie

Die Verwendung von kontaktaktiven und nicht freisetzensen Beschichtungen nimmt aufgrund der zunehmenden Resistenzen und Umweltbelastungen in den letzten Jahren signifikant zu. Eine Möglichkeit hierfür ist der Einsatz von polykationischen Verbindungen mit antimikrobiellen Eigenschaften. Üblicherweise handelt es sich dabei um Makromoleküle mit quaternären Ammonium- oder Phosphonium-Verbindungen und einer hydrophoben Seitenkette. Zu den am meisten untersuchten Polymeren zählen hierbei die quaternären Ammoniumverbindungen (im Englischen: *quaternary ammonium compounds* (QAC)); einen Überblick über verschiedene Polykationen an unterschiedlichen Oberflächen verschafft der Übersichtsartikel von Ferreira und Zumbuehl ⁶⁰. Der Wirkmechanismus beruht darauf, dass die Zellmembranen von Mikroorganismen hydrophob sind. Sobald die Mikroorganismen in Kontakt mit der QAC-beschichteten Oberfläche kommen, kann die Zellmembran durch die

langen hydrophoben Polymerketten des QACs penetriert werden⁶¹. Durch das Eindringen wird die Zellmembran zerstört und tötet somit das Bakterium, was in Abbildung 5 schematisch dargestellt ist.

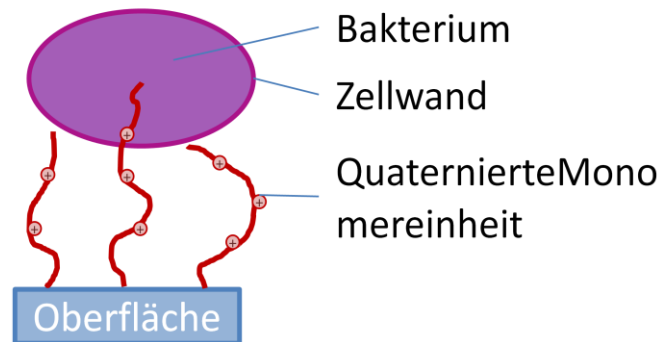


Abbildung 5: Schematische Darstellung der kontaktbioziden Strategie: Penetration des Bakteriums durch hydrophobe quaternierte Monomereinheiten nach Lewis und Klibanov⁶¹.

Eine wichtige Rolle spielt hierbei, dass die hydrophoben Ketten separat aus der beschichteten Oberfläche herausragen. Aufgrund der Thermodynamik können die hydrophoben Ketten in Wechselwirkung untereinander treten und es entsteht eine formlose Masse⁶². Das Problem wird mit Hilfe der positiven Ladung gelöst. Aufgrund der einfachen Quarternisierung werden hierfür häufig Ammonium-Komponenten verwendet. Durch die elektrostatischen Abstoßungen versteifen sich die Polymerketten und eine hydrophobe Assoziation wird verhindert. Ein weiterer Vorteil der positiven Ladung ist die zusätzliche elektrostatische Anziehung von den negativ geladenen Phosphorlipiden der Zellmembranen⁶³. Wichtig hierbei ist es, das optimale Gleichgewicht zwischen der positiven Ladung und der hydrophoben Seitenkette zu finden. Es hat sich gezeigt, dass die Kettenlängen zwischen 4 – 18 Alkylgruppen liegen sollten⁶⁴. Ein Problem bei der Verwendung von QAC ist, dass sie ihre Aktivität in stark verschmutzter Umgebung verlieren³⁰.

2.3.6 Kathetermaterialienmodifizierung

Katheterassoziierte Harnwegsinfektionen sind mit etwa 40 % aller nosokomialen Infektionen eine der häufigsten Gefahren im Krankenhaus, weswegen ein großes Interesse an der Katheteroberflächenfunktionalisierung zur Hemmung der Biofilmbildung besteht. Hierzu gibt

es eine Reihe verschiedener Beschichtungen. Eine der am meist verwendeten Maßnahmen zur Verhinderung von Biofouling auf medizinischen Vorrichtungen ist die Verwendung antibakterieller Mittel wie Silber und Antibiotika (siehe Kapitel 2.3.2). Antibakterielle Mittel, die direkt an der Oberfläche gebunden sind, bieten den Vorteil, dass sie durch die hohe lokale Verabreichung die Toxizitätsgrenze nicht überschreiten. Jedoch ist die Freisetzung der antibakteriellen Mittel stark abhängig von der Beschichtungsart. Dabei wurden verschiedene Antibiotika wie Ciprofloxacin, Gentamicin, Norfloxacin, Nitrofurazon, Minocyclin und Rifampicin für die Funktionalisierung von Material verwendet⁶⁵. Cho et al. entwickelten einen Gentamicin-freisetzenden Katheter, welcher durch ein simples Eintauchverfahren mit Poly(ethylen-co-vinylacetat) und Polyethylenoxid gemischt mit dem Antibiotikum Gentamicin beschichtet wurde⁶⁶. Alle beschichteten Katheter weisen eine anhaltende Freisetzung des Wirkstoffes für bis zu sieben Tage auf und erreichten somit eine Verhinderung der Harnwegsinfektion bei kurzfristiger Katheterisierung.

Es gibt eine Vielzahl verschiedener mit Antibiotika beschichteten Oberflächen, jedoch ist derzeit nur ein mit Minocyclin und Rifampin beschichteter Venenkatheter (Cook SpectrumTM Katheter) mit antibakterieller Beschichtung auf dem Markt. Auch die Adsorption dieser Antibiotika auf Silikon-Blasenkatheatern zeigten signifikante Reduzierungen von gram-positiven Bakterien über 2 – 3 Wochen. Jedoch wurden für die gram-negativen Bakterien eine nahezu gleiche Anzahl zur Kontrollgruppe ermittelt⁶⁷.

Auch der Zusatz von Silber in der Beschichtung von Materialien zeigt eine antibakterielle Wirkung und findet seit langem Anwendung im medizinischen Bereich. In der Regel wird das antibakterielle Silber als ein dünner Film aus Polyethylen, Polyamid oder Polypropylen aufgebracht⁶⁸. Jedoch konnte keine signifikante Reduzierung der Bakterien auf der mit Silber-beschichteten Oberfläche festgestellt werden^{6,65,69}.

Eine weitere Methode ist die Verwendung von Nanopartikeln, welche sich an den Zellwänden festsetzen und in diese hineindringen und so die Zellmembran über Lipidperoxidase und Interaktion mit der chromosomalen DNA stören⁶. Beispiele sind hierfür kolloidale ZnO-Nanopartikel, welche antibakterielle Eigenschaften gegen ein breites Spektrum an Mikroorganismen zeigen, oder Magnesiumfluorid, welches signifikante Hemmungen der Biofilmbildung von *Staphylococcus aureus* und *E. coli* zeigt⁷⁰. In der

Arbeitsgruppe von Gedanken werden zur Modifizierung der Oberfläche Mikrowellen oder sonochemische Reaktionen genutzt⁷¹. Erfolgversprechende Ergebnisse wurden hierbei durch die Beschichtung von Magnesiumflurid auf Latex-Blasen Katheter mittels sonochemischer Reaktion erzielt⁷². Hierbei dringen die Nanopartikel mittels Ultraschallbehandlung durch die Bildung von Mikrojets mit einer hohen Geschwindigkeit (> 100 m/s) in die Oberfläche hinein. Die Partikel sind danach fest in der Oberfläche eingebettet ohne eine chemische Bindung einzugehen.

Eine weitere Methode ist die Verwendung von hydrogelbeschichteten Kathetern, wodurch die Anhaftung von Mikroorganismen und die Verkrustung des Katheters verhindern soll (siehe Kapitel 2.3.3). Gute Ergebnisse wurden hierbei durch die im Hydrogel eingebetteten liposomales Ciprofloxacin auf einem Silikon-Katheter erzielt. Dabei konnte eine signifikante Verbesserung der Durchschnittszeit der Anlagerung von Bakterien gezeigt werden⁷³. Weitere Methoden beschäftigen sich mit der Hemmung des *Quorum sensing* des Biofilms. Eine signifikante Reduzierung von *Pseudomonas aeruginosa* Biofilmbildung auf Silikon-Kathetern konnte durch die Beschichtung mit Acylase erzielt werden⁷⁴. Dabei stört die Acylase die bakterielle Zellenkommunikation. Das Auftragen erfolgte hierbei mittels *Layer-by-Layer* Technik mit alternierenden Schichten aus Acylase und Polyethylenimin.

Es gibt eine Vielzahl an unterschiedlichen Verfahren zur Verhinderung von Katheter-assoziierten Harnwegsinfektionen, jedoch kann noch keine Strategie bislang empfohlen werden⁶. Deswegen muss weiter nach kosteneffizienten und foulingresistenten Strategien geforscht werden. Die effektivste Methode eine Harnwegsinfektion zu vermeiden, ist es, die Katheterisierung mit einem geschlossenen Silikon-Katheter auf kurze Benutzungszeit zu beschränken oder möglichst ganz zu vermeiden.

2.4 Strategien zur Oberflächenmodifizierung

2.4.1 Oberflächenmodifizierung

Die Oberflächeneigenschaften eines Materials, wie Haltbarkeit und Funktionalität, sind durch die Grenzfläche zwischen Feststoff und Umgebung definiert. Ein besonderes Augenmerk liegt auf der chemischen Zusammensetzung der direkten Oberfläche eines

Materials. So kann die Oberflächenbeschaffenheit Schutz vor Korrosion, Abtragung oder Katalysatoren geben. Ein weiterer wichtiger Einsatzbereich sind biomedizinische Anwendungen. Durch gezielte Oberflächenmodifizierungen können die Biokompatibilität von medizinischen Geräten sowie spezielle Wechselwirkungen von Biosensoren optimiert werden. Aufgrund der Tatsache, dass durch die Beschichtung nur die äußerste Oberfläche beeinflusst wird, behält das Material die wichtigsten physikalischen Eigenschaften. Zu einer Maskierung der Materialeigenschaften reicht schon eine Dicke im Nanometerbereich völlig aus. Generell können Oberflächenmodifizierungen in drei Kategorien grob eingeteilt werden:

1. Modifikation der originalen Oberfläche, wie beispielsweise durch Hydrolyse, Elektronenstrahlbehandlung, UV-Bestrahlungen.
2. Nicht kovalente Bindungen, wie *Layer-by-Layer*-Beschichtung, Adsorption auf der Basis amphiphiler Verbindungen, Sol-Gel-Prozess, Dip-, Spin- und Spray-Beschichtung.
3. Kovalente Bindungen funktioneller Gruppen, wie Silanisierung, plasmachemische Verfahren, Gasphasenabscheidung und chemische Pfropfung.

2.4.2 Funktionalisierung durch Adsorption/Entrapment-Mechanismus

Die Tendenz von Molekülen sich an Phasengrenzen, wie beispielsweise Oberflächen, anzureichern wird als Adsorption bezeichnet. Schon 1934 beschrieben Langmuir und Blodgett, in der nach ihnen benannten Technik, die Übertragung von polymeren Monolagen auf speziell präparierte Glasoberflächen⁷⁵. Durch selbstorganisierende Zusammenfindung von Molekülen an Oberflächen wird durch geringen Aufwand die Oberfläche beschichtet. Mit Hilfe von amphiphilen Polymeren kann der Oberfläche eine ganz neue Eigenschaft verliehen werden, da nur eine der beiden Komponenten des Polymers mit der Oberfläche Wechselwirkungen eingeht. So adsorbiert beispielsweise bei einer hydrophoben Oberfläche das hydrophobe Fragment des Polymers an der Oberfläche, während der hydrophile Anteil sich von der Oberfläche weg richtet. Hierbei wird das hydrophobe Fragment als Ankerblock und das hydrophile Fragment als funktionaler Teil, welcher der Oberfläche eine neue Eigenschaft verleiht, bezeichnet. Sind die Polymere dicht gepfropft, entsteht ein geschlossener Film an einzelnen Polymerketten⁷⁶. Hierdurch erfolgt eine Polaritätsänderung

der Oberfläche, sodass danach beispielsweise die Oberfläche eine bessere Benetzbarkeit mit Wasser und eine verringernde Tendenz zur Adsorption von weiteren hydrophoben Molekülen aufweist⁷⁷. Aufgrund der nicht-kovalenten Bindung handelt es sich um einen reversiblen Prozess, der unter starken Abscherkräften des Polymers instabil ist. Das Problem kann durch die feste Einbettung des Ankerblocks in die Oberfläche gelöst werden. Die gezielte Einbettung des Ankerblocks in eine Polymer-Oberfläche wurde erstmals von Ruckenstein als „two-liquid deposition process“ und später von ihm als Entrapment bezeichnet^{78,79}. Dieser Prozess nutzt die Eigenschaft der reversiblen Quellung des Polymermaterials zur Integration des Ankerblocks an der direkten Polymeroberfläche. Hierbei werden zwei unterschiedliche Flüssigkeiten verwendet: Zum einen das erste Lösungsmittel zum Quellen des Polymermaterials und zum anderen ein Nicht-Lösungsmittel zum Entquellen. Ein wichtiger Teilschritt in dieser Methode ist die Adsorption⁸⁰. Diese wird durch die Mischung des ersten Lösungsmittels mit einem Nicht-Lösungsmittel optimiert⁸¹. Die Kombination von Adsorption und Entrapment wird als Adsorption/Entrapment-Prozess bezeichnet und ist in Abbildung 6 schematisch dargestellt.

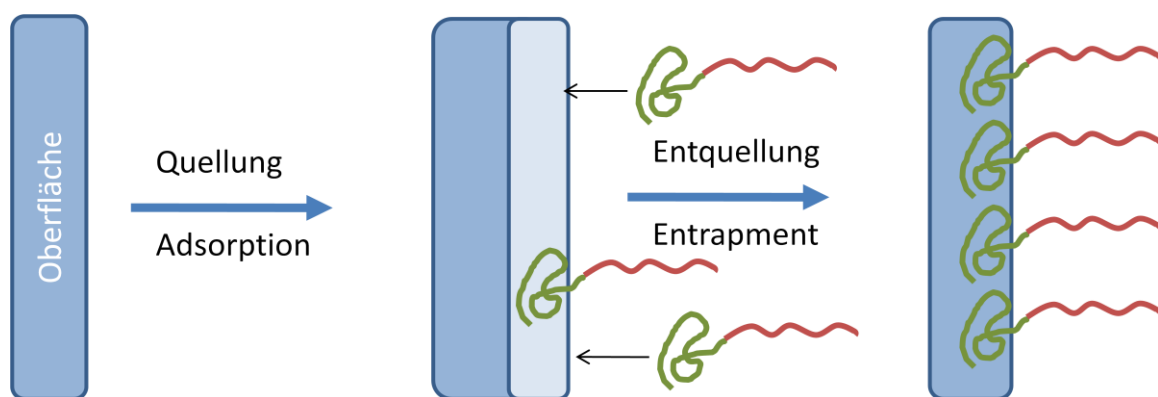


Abbildung 6: Schematische Darstellung des Adsorptions-/Entrapment-Prozesses mit amphiphilen Blockcopolymeren.

Hierbei wird das amphiphile Blockcopolymer in einem Gemisch aus Wasser und einem Lösungsmittel, welches das zu beschichtende Polymermaterial aufquillt, gelöst. Dies dient als Funktionalisierungsreagenz. Im ersten Schritt wird das zu beschichtende Polymermaterial mit dem Funktionalisierungsreagenz umgeben. Durch das Lösungsmittel quillt das

Polymermaterial auf; gleichzeitig adsorbiert das hydrophobe Fragment des Blockcopolymers an das hydrophobe Polymermaterial und kann durch das gequollene Netzwerk eindringen. Der hydrophile Teil richtet sich zu dem Nicht-Lösungsmittel und bleibt damit freiliegend. Danach folgt das Entquellen des Polymermaterials in Wasser. Diese Technik erlaubt dem Blockcopolymer eine orientierte Ablagerung, in dem der Ankerblock fest in der hydrophoben Grenzschicht des Substrates eingebettet ist, während der hydrophile, funktionelle Anteil sich zum Wasser richtet. Untersuchungen an Polypropylen-Membranen von Guo et al. zeigten, dass die Adsorption der amphiphilen Makromoleküle eine wichtige Rolle spielt⁸². Faktoren wie Wasser-Lösungsmittel-Verhältnis und Konzentration und Struktur des amphiphilen Makromoleküles haben Einfluss auf die Adsorptionstendenz. Je nach Aggregat der Makromoleküle wie Unimere, Mizellen und reverse Mizellen kann die Adsorptionseffizienz variieren.

Mit Hilfe von Adsorption/Entrapment wurden schon in früheren Studien erfolgreich Polypropylen, Polymethylmethacrylat, Polystyrol, Polyvinylacetat oder Polyethylenterephthalat als Substrate mit den Funktionalisierungsreagenzien von beispielsweise Poly(ethylenoxid-propylenoxid) (PEO-PPO) Blockcopolymere oder Poly(ethylenglycol) (PEG) durchgeführt. Als erstes Lösungsmittel wurde Aceton oder 80-82% Trifluoressigsäure/Wasser verwendet⁸³. Zur Entquellung wurde Wasser eingesetzt.

2.4.3 Layer-by-Layer Beschichtung

Eine weitere Methode zu Modifizierung der Oberfläche stellt die *Layer-by-Layer*-Beschichtung dar. Über dieser Methode wurde erstmals 1966 von Iller berichtet⁸⁴, die erst in den frühen Neunzigern von Decher und Lvov weiter umgesetzt wurde^{85,86}. Seitdem wird es in verschiedenen Anwendungsbereichen eingesetzt wie in der Biomedizin⁸⁷, in der Membrantechnik^{88,89} sowie in der Photonik als optischer Filter oder lumineszierende Beschichtung⁹⁰.

Das Verfahren beruht dabei auf selbst assemblierenden, entgegengesetzt geladenen Polyelektrolyten, welche mit Hilfe elektrostatischer Wechselwirkungen auf einer Oberfläche adsorbieren. Die geladene Oberfläche wird zunächst einige Minuten in eine Polyelektrolyt-

Lösung mit entgegengesetzter Ladung eingetaucht. Dabei lagert sich meist ein flacher Polymerfilm auf der Oberfläche ab. Danach erfolgt ein Waschvorgang, wobei alle nicht gebundenen Polymere von der Oberfläche entfernt werden. Zum weiteren Aufbau einer folgenden Schicht wird die Oberfläche erneut in eine entgegengesetzt geladene Polyelektrolyt-Lösung eingetaucht. Um die gewünschte Schichtdicke zu erreichen, lassen sich diese Adsorption-Wasch-Zyklen beliebig oft wiederholen, wie in Abbildung 7 dargestellt.

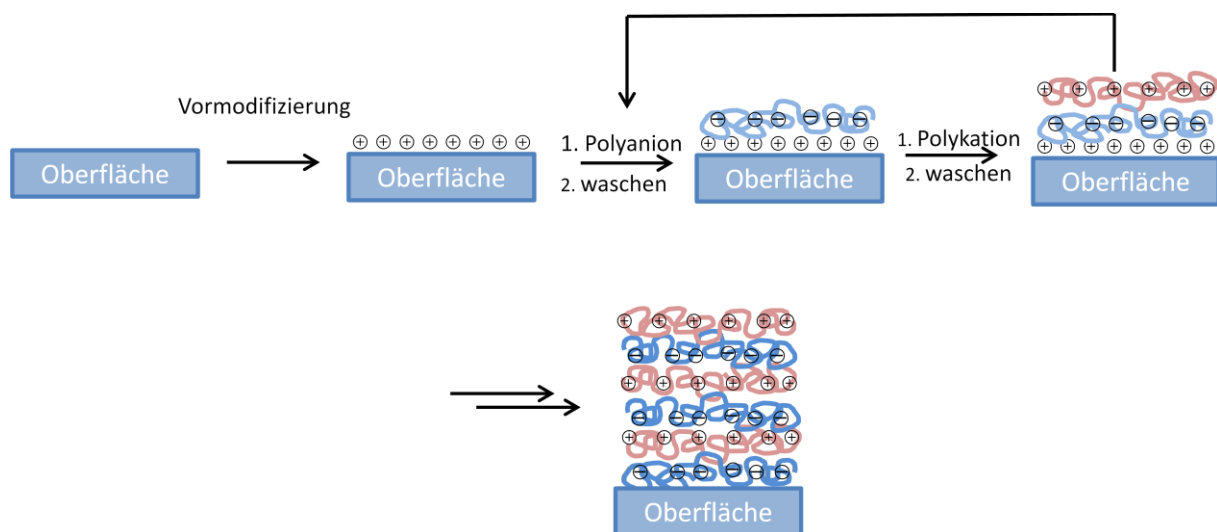


Abbildung 7: Schematische Darstellung der *Layer-by-Layer* Beschichtungsmethode alternierend mit Polyanionen und Polykationen.

Die Aufbringung der Polyelektrolytmoleküle ist durch die Repulsion gleich geladener Moleküle begrenzt, sodass eine Selbstregulation der Adsorption vorliegt. Aufgrund der eingesetzten Makromoleküle adsorbieren jedoch mehr der Ladungsträger als von der entgegengesetzten Oberfläche vorgegeben ist. Dies resultiert in einer Umkehrung der Oberflächenladung, welche für die weiteren Schichten wieder genutzt werden kann. Dabei basiert die Anlagerung nicht nur allein auf elektrostatischen Wechselwirkungen. Je nach Polyelektrolyt sind auch andere Wechselwirkungen beteiligt, wie beispielsweise Wasserstoffbrücken-Bindungen, hydrophobe Anziehungskräfte und *charge-transfer*-Wechselwirkungen. Desweiteren wird die Anlagerung durch den zusätzlichen Entropiegewinn bevorzugt. Aufgrund dieser vielen Wechselwirkungen lässt sich eine große

Vielfalt als Polyelektrolyten verwenden, wie beispielsweise Proteine, Enzyme, Nanopartikel und amphiphile Blockcopolymere⁹¹.

Die selektive Abscheidung der Polyelektrolyten auf der Oberfläche sowie die Konformation der adsorbierten Polymerketten hängen von einer Reihe unterschiedlicher Parameter ab. Der Polyelektrolyt kann durch das Molekulargewicht, Ladungsdichte und Ionenstärke die Schichtdicke beeinflussen^{92–95}. Neben den verwendeten Polyelektrolyten gibt es noch weitere Faktoren, welche die Oberflächenbeschichtung beeinflussen. Einer der wichtigsten Einflüsse ist dabei die Salzkonzentration und Salzart der Polyelektrolyt-Lösung⁹⁶. Dabei gilt derselbe Trend wie bei der Ladungsdichte der Polyelektrolyte. Reduziert man die Ladungsdichte oder setzt Salz in die Polyelektrolyt-Lösung hinzu, wird in beiden Fällen die Steifheit der Polymerkette reduziert⁹³. Durch die Bildung von Windungen der Polymerketten in Lösung und dessen Adsorption an der Oberfläche ist der Polyelektrolyt mehr verknäult und besitzt eine größere Schichtdicke⁹⁴. Aber auch Polymerkonzentration, Lösungsmittel, Beschichtungszeit, pH-Wert und Temperatur spielen eine Rolle bei der Adsorption des Polyelektrolyten^{89,97,98}. Die Einfachheit des Beschichtungsverfahrens, die geringen Kosten und die Vielfalt an Polyelektrolyten macht diese Oberflächenbeschichtung so attraktiv.

2.5 Die lebende radikalische Polymerisation durch Atomtransfer

2.5.1 Allgemeiner Mechanismus

Eine der bekanntesten Polymerisationen ist die radikalische Polymerisation, da diese über eine Vielzahl an möglichen Monomeren verfügt und eine hohe Polymerisationsgeschwindigkeit aufweist. Der Nachteil ist jedoch, dass aufgrund der Abbruchreaktionen wie Kombination und Disproportionierung keine definierte Molmassenverteilung möglich ist. Bei der sogenannten lebenden Polymerisation existiert diese Abbruchreaktion nicht, sodass ein kontrolliertes Polymerwachstum mit definierter Molmasse möglich ist. Hierzu zählt die Atom Transfer radikalische Polymerisation, kurz ATRP, über welche erstmals 1995 von Krzysztof Matyjaszewski und Mitsue Sawamoto fast gleichzeitig berichtet wurde^{99,100}. Seitdem wurde der Mechanismus und die Einflussfaktoren

intensiv untersucht und in der gegebenen Literaturstelle von Matyjaszewski ausführlich dargelegt¹⁰¹.

Das Konzept der ATRP beruht auf der Basis des dynamischen Gleichgewichtes zwischen einer aktiven sowie einer schlafenden (deaktiven) Spezies. Der Mechanismus der ATRP ist in Abbildung 8: Allgemeiner Mechanismus der Atomtransfer Radikal Polymerisation (ATRP).Abbildung 8 dargestellt.

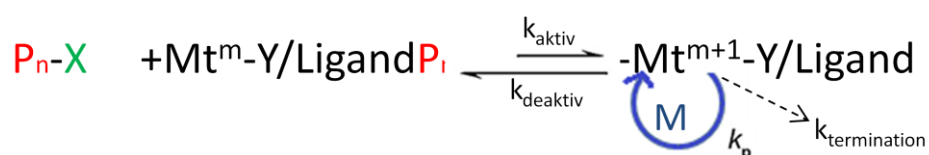


Abbildung 8: Allgemeiner Mechanismus der Atomtransfer Radikal Polymerisation (ATRP).

Das eingesetzte Metall (Mt) bildet mit dem Liganden einen löslichen Komplex, welcher reversibel mit einem Organohalogenid reagieren kann. Durch das katalytische Einwirken des Metallkomplexes wird aus der schlafenden Spezies (P_n-X) unter homolytischer Abspaltung des Halogenids die aktive Spezies (P_n^\bullet). Durch diese Abspaltung oxidiert der Metallkomplex. Im Initiierungsschritt kann sich nun ein Monomer (M) an die aktive Spezies anlagern und wird durch den oxidierten Metallkomplex wieder reversibel in eine schlafende Organohalogenid-Verbindung überführt. Dieser Vorgang wiederholt sich solange ausreichend Monomer vorhanden ist. Für eine kontrollierte Polymerisation sollte die Radikalkonzentration niedrig gehalten werden. Daher ist eine schnelle Gleichgewichtseinstellung, die auf der Seite der schlafenden Spezies liegt, wichtig. Die Geschwindigkeitskonstante $k_{deaktiv}$ sollte somit größer sein als die Geschwindigkeitskonstanten k_{aktiv} und $k_{termination}$, sodass die aktive Spezies nach jeder Anlagerung eines Monomers direkt wieder deaktiviert wird. Somit können Kettenabbruchreaktionen, wie bei der normalen radikalischen Polymerisation, unterdrückt werden. Zusätzlich unterliegt die ATRP auch dem *persistent radical effect*, der von Fischer erstmals beschrieben wurde¹⁰². Persistente Radikale können oft aus sterischen Gründen nicht mit sich selber reagieren. Bei der ATRP handelt es sich bei dem oxidierten Metallkomplex um ein sogenanntes persistentes Radikal, welches nur mit der aktiven Spezies rekombinieren kann. Bei der aktiven Spezies handelt es sich um ein normales Radikal, weshalb hier die Terminationsreaktion nicht vollständig verhindert werden kann.

Besonders beim Start der Polymerisation ist die Konzentration der Radikale sehr hoch. Jedoch nimmt mit jeder Abbruchreaktion die Konzentration an dem oxidierten Metallkomplex, dem persistenten Radikal, zu. Aufgrund der Beständigkeit der oxidierten Metallkomplexe verschiebt sich das Gleichgewicht immer mehr auf die Seite der schlafenden Spezies, sodass die Abbruchreaktionen immer mehr unterdrückt werden können und eine „lebende“ Polymerisation vorliegt. Die Kinetik der ATRP ist abhängig von der Reaktionsgeschwindigkeit der aktiven Spezies und verläuft im Bezug auf den Monomerüberschuss nach einem Geschwindigkeitsgesetz erster Ordnung.

Durch die Reduzierung der Reaktionsgeschwindigkeit und das Ausbleiben von Terminationsreaktionen ist es möglich Copolymere herzustellen, welche einstellbare Kettenlängen besitzen und die Endgruppen des Initiators zu erhalten. Weiterhin ist die Molmassenverteilung, die durch die Polydispersität (PDI) beschrieben wird, sehr eng. Liegt der PDI bei 1 handelt es sich um ein monodisperses System, wobei der Initiationsschritt schnell und quantitativ und das Polymerwachstum kontrolliert ablaufen muss. Von einer lebenden Polymerisation spricht man, wenn der PDI zwischen 1.0 und 1.5 liegt.

Die ATRP lässt sich leicht durch viele Parameter variieren, sodass auch komplizierte Polymerarchitekturen möglich sind. So erlaubt der Prozess die Herstellung von gezielten molekularen Massen sowie die Architektur von linearen, verzweigten oder sternförmigen Copolymeren. Hierbei spielt die Wahl der Monomere, Liganden, Initiatoren, Metallkomplexe und Lösemitteln eine entscheidende Rolle. Aber auch die Temperatur kann die Polymerisationsgeschwindigkeit entscheidend beeinflussen.

Als Monomer steht eine große Bandbreite an Verbindungen zur Verfügung. Wichtig dabei ist, dass die Doppelbindungen durch Substituenten wie beispielsweise durch Ester- oder Amid-Gruppen stabilisiert werden. Weiterhin sollte das Monomer keine komplexbildenden Gruppen aufweisen, sodass es nicht zur Inaktivierung des Katalysators führt¹⁰³. Typische Monomere umfassen Styrol, (Meth)acrylate, (Meth)Acrylamide und Acrylnitrile¹⁰⁴.

Bei dem Metallkomplex handelt es sich um ein redoxaktives Übergangsmetall, das mindestens zwei Oxidationsstufen aufweist. Das am häufigsten verwendete Übergangsmaterial ist dabei Kupfer, aber es gibt auch andere Metalle wie zum Beispiel Ruthenium, Eisen, Molybdän und Osmium¹⁰¹. Durch die Komplexbildung kann das Metallsalz

im Lösungsmittel stabilisiert werden. Auch hier gibt es eine Vielzahl an Liganden, die Einfluss auf die Aktivität und Effizienz des Katalysators besitzen. Hierbei spielen elektronische und sterische Effekte eine wichtige Rolle. Für Kupfer eignen sich mehrzählige Stickstoffverbindungen als Liganden, da diese stark komplexieren und die Aufnahme des Halogens erlauben. Dabei werden tetraedrische oder quadratisch-planare Liganden bevorzugt, sodass kationische Komplexe mit vierzähligen Liganden entstehen. Eine weitere Einflussgröße ist die Reaktivität, die durch die chemische Natur der Stickstoffatome gegeben wird. Diese nimmt in der Reihe aliphatische Amine, Pyridine und Imine zu. Befindet sich eine Zwei-Kohlenstoff-Brücke zwischen den Stickstoffen, erzeugt der Komplex höhere Aktivität als bei drei oder vier Kohlenstoffen. Der sterische Anspruch eines Liganden reduziert die Aktivität des Katalysatorkomplexes. So ist der Ligand Me_6TREN 10000 mal aktiver als der Ligand Et_6TREN ¹⁰¹.

Auch die Wahl des Initiators bei der ATRP ist ein entscheidender Faktor in Bezug auf die Geschwindigkeit des Prozesses, da der Initiierungsschritt möglichst schnell und quantitativ erfolgen sollte. Als Initiator eignen sich Kohlenstoff-Halogenverbindungen, die durch eine katalysierte homolytische Spaltung eine radikalische Polymerisation starten können. Wie bei der normalen radikalischen Polymerisation ist es förderlich, wenn das entstehende Radikal über Substituenten stabilisiert wird. Die Reaktivität der Organohalogenide ist folglich bei tertiären Kohlenstoffen höher als bei sekundären und primären. Aber auch durch die radikalstabilisierenden Gruppen wie α Cyano, α Phenyl oder Estergruppen steigt die Aktivität des Initiators. Das Halogenid selbst hat ebenfalls einen großen Einfluss, da die Bindungsstärke der Kohlenstoff-Halogen-Bindung mit der Geschwindigkeit der homolytischen Spaltung einhergeht. Somit ist die Übertragung eines Chlorids als Halogenatom schneller als mit Bromid.

Das System kann ebenfalls durch das Lösungsmittel gesteuert werden. Wichtig ist hierbei, dass alle Komponenten wie auch das entstehende Polymer löslich sind. Ferner hat die Polarität des Lösungsmittels einen Einfluss. Je polarer das Lösungsmittel, desto mehr wird der kationische Kupfer(II)-Komplex stabilisiert und umso höher ist die Polymerisationsgeschwindigkeit.

Aus diesen Fakten zeigt sich, dass es sich bei der ARTP um eine vielseitige Synthestechnik zur Herstellung von Polymeren mit kontrollierter Struktur und Eigenschaften handelt. Durch die gezielte Auswahl der erwähnten Faktoren entstehen effizientere und reaktivere Systeme, die zu maßgeschneiderten Molmasse und Polydispersitäten führen.

3 Zielsetzung und Konzept

Wie aus der Einleitung ersichtlich ist, gehört die Katheter assoziierte Harnwegsinfektion zu den häufigsten im Krankenhaus auftretenden nosokomialen Infektionen und stellt somit ein großes Problem dar. Das Hauptziel der vorliegenden Arbeit ist es, Methoden zur Oberflächenfunktionalisierung von PDMS-Kathetermaterialien zu entwickeln, um die transurethrale Katheterisierung herkömmlicher Katheter für bis zu zehn Tage ohne Gefahr für den Patienten zu ermöglichen. Hierzu sollten maßgeschneiderte Copolymere synthetisiert werden, welche einen Antifouling Effekt aufweisen und mit deren Hilfe das Enzym CDH immobilisiert werden kann. Die resistente Antifouling Beschichtung soll durch das Einbauen zwitterionischer Komponenten eine unspezifische Adsorption von Bakterien verhindern. Des Weiteren soll der Oberfläche eine antimikrobielle Eigenschaft durch das Enzym CDH verliehen werden. Auf Basis hydrophober Ammoniumverbindungen soll zudem eine kontaktbiozide Oberfläche geschaffen werden.

Die Funktionalisierung des Kathetermaterials erfolgte durch zwei unterschiedliche Ansätze. Zum einen soll durch die Postfunktionalisierungsmethode des Adsorption/Entrapment-Verfahrens ein amphiphiles Diblock-Copolymer mit definierter Polymerarchitektur in das PDMS-Material eingebracht werden. Das Polymer wurde mit Hilfe einer Atom Transfer Radikalpolymerisation hergestellt und besteht zum einen aus dem hydrophoben PDMS-Ankerblock, welcher kompatibel mit dem PDMS-Material ist, und zum anderen aus einem funktionellen Block aus Zwitterionen, der die Bildung von Biofilmen verhindert (siehe Abbildung 9).



Abbildung 9: Schematische Darstellung der Adsorption/Entrapment Modifizierung: Zielstruktur des Blockcopolymer mit Antifouling funktionaler Komponente und einem Ankerblock (PDMS).

Das Prinzip der Funktionalisierung beruht zum einen auf dem reversiblen Quellverhalten des Kathetermaterials und zum anderen auf der Adsorption des hoch kompatiblen Ankerblockes zum Kathetermaterial. Hierbei kann der hydrophobe Ankerblock des

Funktionalisierungsreagenzes mit der hydrophoben Oberfläche wechselwirken und in das gequollene Netzwerk eindringen. Gleichzeitig orientiert sich der hydrophile Teil, bestehend aus den Zwitterionen, von der Oberfläche weg. Durch das vollständige Entquellen des PDMS-Materials kann das Funktionalisierungsreagenz fest in der Oberfläche verankert werden. Der Prozess Adsorption/Entrapment soll an das PDMS-Kathetermaterial angepasst werden. Zudem sollen durch die definierte Polymerarchitektur die Auswirkungen der Kettenlänge auf die Beschichtung diskutiert werden.

Zum anderen soll das PDMS-Kathetermaterial mit Hilfe der *Layer-by-Layer*-Beschichtungsmethode funktionalisiert werden. Hierzu sollte ein Polymer entworfen werden, welches sowohl als Polymerbaustein für das *Layer-by-Layer*-Verfahren dient als auch eine Antifouling-Eigenschaft aufweist. Dazu sollen Segmente mit quarternierten Ammonium-Gruppen mit solchen zu kombiniert werden, die Zwitterionen enthalten. In der Arbeit soll untersucht werden, inwiefern der zwitterionische Anteil den Aufbau und die Stabilität des *Layer-by-Layer*-Schichtsystems beeinflusst und welche mikrobiologische Auswirkung das Zwitterion besitzt (siehe Abbildung 10).

Dies soll zunächst auf dem Modellsystem Si-Wafer untersucht werden und dann auf das PDMS-Kathetermaterial übertragen werden.

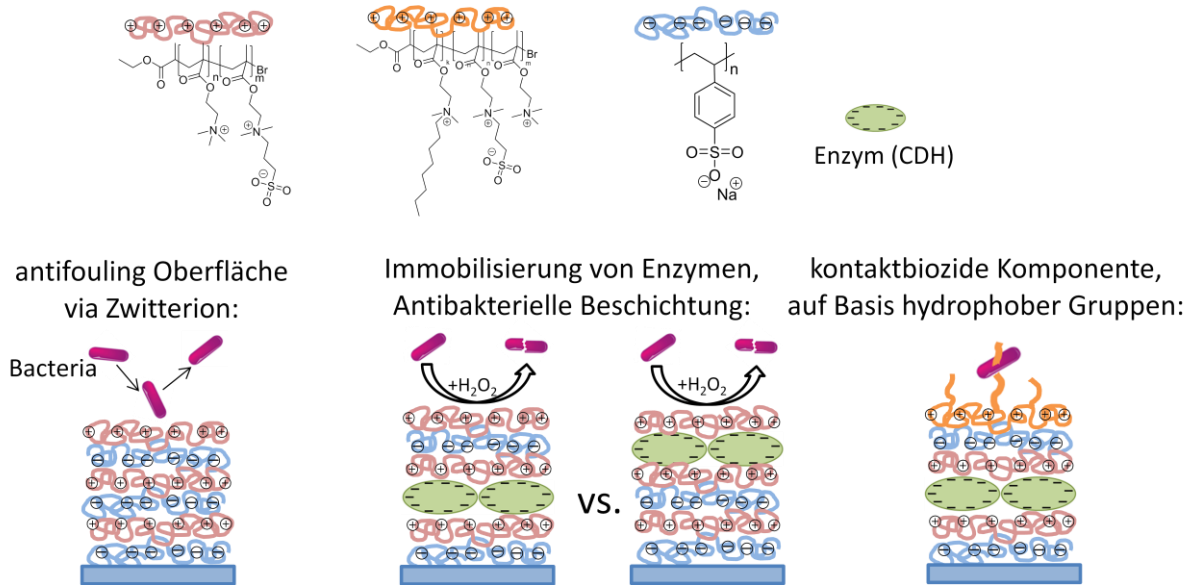


Abbildung 10: Schematische Darstellung der *Layer-by-Layer*-Modifizierung: Oberflächenvormodifizierung mittels APTS; alternierende Schichten mit unterschiedlichen polymeren Bausteine; Polyanionen: Polystyrolsulfonat (PSS) und Cellobiose Dehydrogenase (CDH) für antibakterieller Beschichtung; Polykationen: neuartige Copolymere (PTMAEMA-co-PSPE) bei Variation der Sulfobetain Fraktion und gegeben falls Zusatz von quartären hydrophoben Gruppen für Kontakt biozide Strategie

Die Beschichtung entsteht durch das alternierende Auftragen des Polyanion PSS und des synthetisierten Polykations auf die aminofunktionalisierten Proben. Im Weiteren soll das Mehrschichten-System als Reservoir für das Enzym Cellobiose Dehydrogenase dienen, welches aufgrund seines niedrigen isoelektrischen Punktes als Polyanion integriert werden soll. Das Enzym bindet speziell an Biofilm-Polysaccharide und erzeugt antimikrobielles Wasserstoffperoxid, welches die biofilmbildenden Bakterien töten soll. Auf der Basis von hydrophoben Seitenketten soll der letzten Schicht zusätzlich eine kontaktbiozide Eigenschaft verliehen werden.

Für alle Proben wird der Einfluss der Ladungsdichte, der Enzym Immobilisierung, der Enzymaktivität und der Trocknungsart untersucht. Hierfür wurde der jeweilige Schichtenaufbau mit verschiedenen Verfahren untersucht und die Funktionalität der Beschichtungen analysiert.

4 Experimenteller Teil

4.1 Charakterisierung von PDMS

In diesem Abschnitt wird die Charakterisierung der Silikone-Kathetermaterialien durch verschiedene Methoden beschrieben. Hierbei handelt es sich um flache Materialplatten aus Polydimethyl/vinylmethyl Siloxan (PDMS) nach ASTM D 1418 der Firma Degania Silicone (Israel), die für die Herstellung von Blasenkathetern benutzt werden. Als Ausgangsmaterial dienen zwei verschieden stark elastische Materialien. Zum einen das flexible Schlauchmaterial und zum anderen das sehr elastische Ballonmaterial (siehe Abbildung 1). Beide bestehen aus Polydimethylsiloxane (PDMS) variierender Vernetzungsgrade und unterschiedlicher Zugabe sogenannter primärer, verstärkender Füllstoffe wie zum Beispiel Siliziumdioxid.

4.1.1 Quellverhalten

Für die Untersuchung der volumetrischen Quellung wurden die unterschiedlichen PDMS-Materialien in gleichgroße Proben von $1 \times 2.3 \text{ cm}^2$ geschnitten und gründlich mit Ethanol und MilliQ-Wasser gewaschen. Danach folgte die Trocknung im Vakuumofen bei 40°C bis ein konstantes Trockengewicht erreicht wurde. Nach Vermessen des Trockengewichtes wurden die Proben in verschiedenen Lösungsmitteln für 24 Stunden eingelagert. Für folgende Lösungsmittel wurde das Quellverhalten getestet: Acetonitril, Chloroform, Cyclohexan, Dimethylformamid (DMF), Ethanol, *n*-Hexan, *iso*-Propanol, Tetrahydrofuran (THF), Toluol und Wasser. Die Proben wurden mit Hilfe von Präzisionstüchern abgetrocknet und anschließend direkt abgewogen. Dabei erfolgte für jedes Lösungsmittel eine Dreifachbestimmung. Nach erneutem Trocknen im Vakuumofen bei 40°C wurde das Trockengewicht bestimmt, um einen möglichen Massenverlust zu ermitteln. Die volumetrischen Quellungen ließen sich gravimetrisch über die Differenz aus der Masse des gequollenen und des trockenen Gewichts der Proben mit folgender Gleichung errechnen.

$$\text{Quellung} [\%] = \frac{m_{\text{gequollen}} - m_{\text{trocken}}}{m_{\text{trocken}}} \cdot \frac{\rho_{\text{Polymer}}}{\rho_{\text{Lösungsmittel}}} \cdot 100\% \quad \text{Formel 1}$$

Hierbei ist $m_{\text{gequollen}}$ das Quellgewicht, m_{trocken} das Trockengewicht, ρ_{Polymer} die Dichte des Polymers (0.97 g/cm^3) und $\rho_{\text{Lösungsmittel}}$ die Dichte für das jeweilige Lösungsmittel. Der Quellungsgrad ist somit ein Maß für die Menge an Lösemittel, die das Netzwerk absorbieren kann.

4.1.2 Rheologie

Das dynamische mechanische Verhalten von vernetzten Polymeren kann als ein Modell der viskoelastischen Eigenschaften beschrieben werden. Mittels Rheometermessungen kann die mittlere Maschenweite (ξ) und die mittlere Vernetzungsdichte eines Gummis ermittelt werden. Dies erfolgt aus der Aufnahme des Speicher (G')- und Verlustmoduls (G'') in einem Oszillationsexperimentes für einen definierten Frequenzbereich. Das Speichermodul charakterisiert den elastischen Anteil; dies ist ein Maß der Energiemenge, die durch die Probe gespeichert werden kann. Je größer das Speichermodul ist, desto steifer ist das System. Dahingegen beschreibt das Verlustmodul den viskosen Anteil eines Systems und ist ein Maß des Energieverlustes durch die irreversible Deformation.

Die Messungen erfolgten mit Hilfe eines Rheometers der Baureihe *Physica MCR 301* der Firma *Anton Paar*. Die Konfiguration der Messung war ein Platte-Platte-Rheometer mit einem Plattenelement PP25-SN18670. Materialproben von Ballon- und Schlauchmaterial wurden in Ethanol und Wasser gewaschen und im Vakuumofen für drei Tage getrocknet. Anschließend wurden die Proben in die unterschiedlichsten Lösemittel für 24 Stunden eingelagert, bevor diese dann mit einem Locheisen auf den Durchmesser von 25 mm ausgestanzt und im Rheometer vermessen wurden. Bedingt durch die teilweise starken Quellungen des PDMS wird der Messspalt durch das Absenken der oberen Platte auf eine Kraft von 16 Newton eingestellt.

Zur Ermittlung des linear viskoelastischen Bereiches der Proben wurden zunächst dynamische Belastungs-/ Modulmessungen durchgeführt. Die Oszillationsmessung wurde in dem Amplitudenbereich von 100 rad/s und 0.01 - 50 % durchgeführt. Wie in Abbildung 11 dargestellt, befindet sich der linear viskoelastische Bereich bis zu einer Scherspanne von

0.1 %. Dieser wurde als Parameter für weiterfolgende Frequenz-/ Modulmessungen festgelegt. In diesem Bereich ist die Deformation noch reversibel und die Probe kann in ihre ursprüngliche Form wieder zurückgeführt werden. Bei höherer Scherspannung beginnt die irreversible Deformation und Vernetzungspunkte brechen. Dies führt zu einem Abfall des Speichermoduls und der Zunahme des Verlustmoduls.

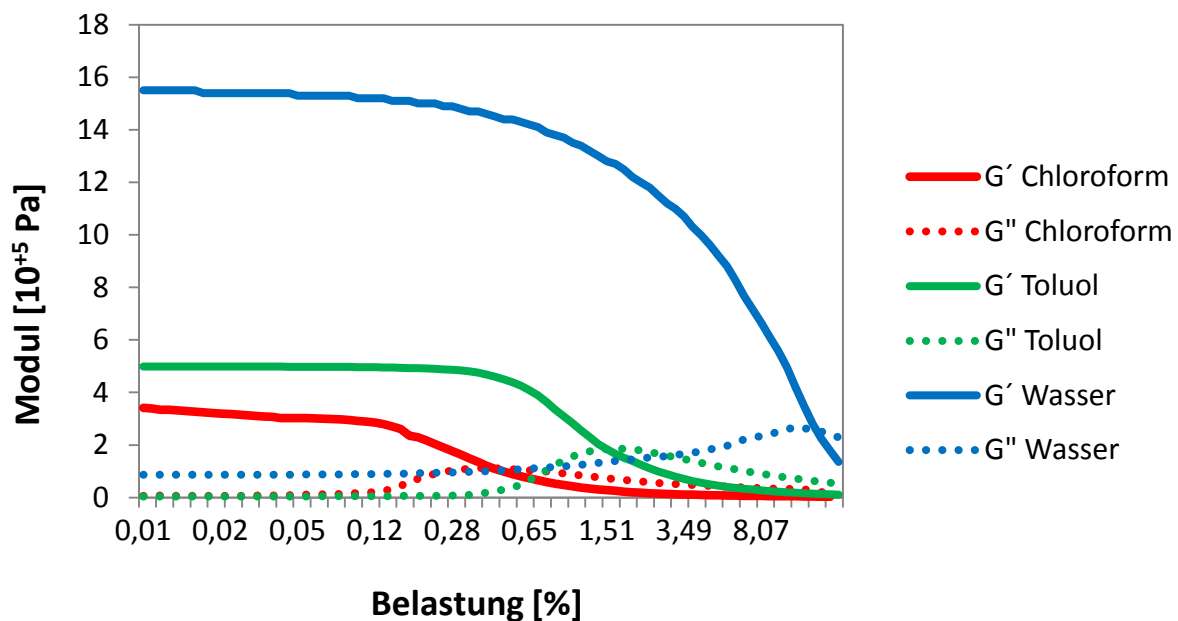


Abbildung 11: Dynamisches mechanisches Verhalten von in verschiedenen Lösungsmitteln gequollen PDMS.

Es konnte gezeigt werden, dass mit Hilfe des viskoelastischen Bereiches folgende Beziehung der Eigenschaften eines Gummis aufgestellt werden kann ¹⁰⁵.

$$G' = n_{NW} \cdot R \cdot T$$

Formel 2

n_{NW}	Anzahl von Netzwerketten pro Volumeneinheit
R	universelle Gaskonstante
T	Temperatur

Weiterhin kann daraus die Maschenweite (ξ) und die Vernetzungsdichte (N) des Netzwerkes mit folgender Beziehung errechnet werden.

$$\xi = \left(\frac{R \cdot T}{G' \cdot N_A} \right)^{1/3}$$

Formel 3

$$N = \frac{G' \cdot N_A}{R \cdot T}$$

Formel 4

N_A	Avogadro-Zahl
-------	---------------

Hierbei geht man von einem Gaußketten-Modell aus. Bei PDMS handelt es sich um ein nicht geordnetes und unregelmäßiges Polymernetzwerk, weshalb nur die durchschnittliche Maschenweite und Vernetzungsdichte kalkuliert werden kann.

Der Frequenztest wurde mit einer Deformationsamplitude von 0.1 % und einer Frequenz von 0.1 – 100 rad/s durchgeführt. Für folgende Lösungsmittel wurden die Frequenzmessungen am Rheometer realisiert: Acetonitril, Chloroform, Cyclohexan, Dimethylformamid (DMF), Ethanol, *n*-Hexan, *iso*-Propanol, Tetrahydrofuran (THF), Toluol und Wasser.

4.1.3 Thermogravimetrische Analyse

Zur Charakterisierung der unterschiedlichen PDMS-Materialien wurde eine thermogravimetrische Untersuchung mit dem Netzsch STA 409 PC *Luxx® System* durchgeführt. Bei der Thermogravimetrischen Analyse (TGA) wird die zeitliche und temperaturbedingte Masseänderung einer Probensubstanz gemessen. Dabei unterliegt die zu untersuchende Substanz einem kontrollierten Temperaturprogramm. Das TGA ist mit einer Quarzkristall-Mikrowaage ausgestattet, welche den Massenverlust während der Temperaturzunahme aufnimmt. Circa 70 mg der jeweiligen Probe wurde genau in einem temperaturstabilen Probengefäß eingewogen. Das Probengefäß wurde dann in die dafür vorgesehene Halterung des Gerätes hineingesetzt und verschlossen. Nach mehrfachen Evakuierungen und Stickstoffaustausch wurde ein Volumenstrom von 50 mL/min an dem Trägergas-Stickstoff eingestellt. Die Messungen starten mit einer Anfangstemperatur von 25 °C und einer konstanten Aufheizrate von zwei Kelvin pro Minute, die die Probe bis 700 °C aufheizt.

4.2 Synthese

In diesem Abschnitt wird die Synthese der verschiedenen Copolymere beschrieben, die für die später folgenden Adsorptions/Entrapment-Prozesse beziehungsweise für die *Layer-by-Layer*-Beschichtungen benötigt werden.

4.2.1 Synthesen des amphiphilen Diblock-Copolymer PDMS-*b*-PSPE

4.2.1.1 Synthese des PDMS-Makroinitiators

Zur Herstellung eines Makroinitiators wurde das monohydroxyfunktionelle terminierte Poly(dimethylsiloxan) (PDMS-OH) von ABCR mit einer molaren Masse von ca. 1000 g/mol mit einer Chlorcarbonsäure verestert.

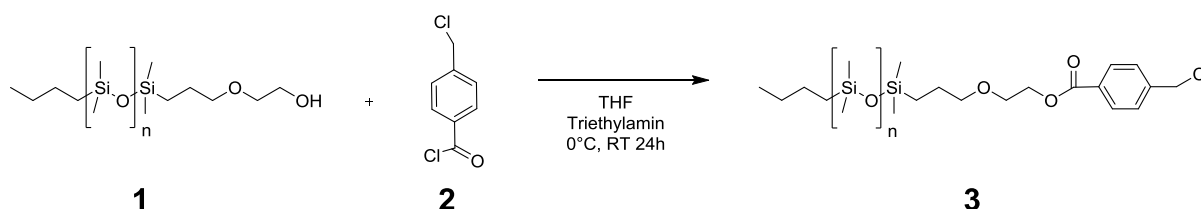


Abbildung 12: Reaktionsschema der Makroinitiator-Synthese von PDMS-Cl (3).

In einem Schlenkkolben wurden 1 eq PDMS-OH **1** mit 180 eq trockenem Tetrahydrofuran (THF) versetzt. Um die bei der Reaktion entstehende Salzsäure abzufangen, wurde die Lösung mit 6 eq Triethylamin ergänzt und unter Stickstoffatmosphäre auf 0 °C abgekühlt. Durch einen aufgesetzten Tropftrichter wurde dann eine Lösung aus einem Überschuss an 4-Chloromethylbenzoylchlorid **2** (1.5 eq) und 80 eq trockenem THF innerhalb einer Stunde langsam hinzuge tropft. Die Reaktion wurde über Nacht bei Raumtemperatur vervollständigt. Zur Entfernung des entstandenen Aminsals wurde die Lösung zunächst über Aktivkohle gefiltert. Nach Entfernen des THF durch einen Rotationsverdampfer wurde die Lösung in Dichlormethan (DCM) gelöst und drei Mal mit einer gesättigten Natriumhydrogencarbonat-Lösung ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Lösungsmittels wurde eine gelbe, hochviskose Flüssigkeit erhalten.

Ebenfalls wurde das monohydroxyl-terminierte Polydimethylsiloxan mit einer molaren Masse von circa 5000 g/mol von der Firma ABCR zur Herstellung des amphiphilen Blockcopolymer als Anfangsmolekül getestet (siehe Anhang: Kapitel 9.5).

Das Produkt wurde charakterisiert mittels ^1H -NMR-Spektroskopie (300 MHz, CDCl_3): δ (ppm) \approx 0.06 (s, 90H, -Si-CH₃), δ (ppm) \approx 0.54 (m, 4H, -Si-CH₂-), δ (ppm) \approx 0.88 (m, 3H, -CH₃), δ (ppm) \approx 1.25 (m, 4H, -Si-CH₂-CH₂-), δ (ppm) \approx 1.62 (v, 2H, -O-CH₂-CH₂-), δ (ppm) \approx 3.48 (m, 2H, -O-CH₂-), δ (ppm) \approx 3.76 (m, 2H, -O-CH₂-CH₂-O-), δ (ppm) \approx 4.47 (m, 2H, -O-CH₂-CH₂-O-), δ (ppm) \approx 4.461 (s, 2H, -Aromat-CH₂-Cl), δ (ppm) \approx 4.47 (m, 2H,

-O-CH₂-CH₂-O-), δ (ppm) \approx 7.45 (m, 2H, Aromat), δ (ppm) \approx 8.06 (m, 2H, Aromat) und mittels IR-Spektroskopie (flüssig, Transmission, KBr-) (cm⁻¹): (s, -Si-CH₃), 1010 - 1079 (s, O-Si-O), 1258 (s, -COOC-; -Si-CH₃), 1412 (w, -CH₂, -CH₃), 2962 (v, R₂N-CH₂, R₂N-CH₃).

Die Ausbeute betrug jeweils ca. 80 %. (Reinheit ließ sich gut über die Aromaten Peaks im ¹H-NMR bestimmen.)

4.2.1.2 Polymerisation zum Diblockcopolymer

Aufgrund der schlechten Löslichkeit des amphiphilen Ziel-Blockcopolymers wurde die Herstellung des funktionellen Teils mit den Zwitterionen in zwei Syntheseschritte geteilt. Im ersten Schritt erfolgt die Polymerisation von (2-Dimethylaminoethyl)methacrylat. Dies erfolgte durch die Anwendung der Atom Transfer Radikal Polymerisation. Hierzu wurde die Polymerisation nach Berndt et al.⁸¹ auf den Makroinitiator optimiert. Durch die Zugabe unterschiedlicher Mengen an Monomere konnte die Polymerlänge eingestellt werden.

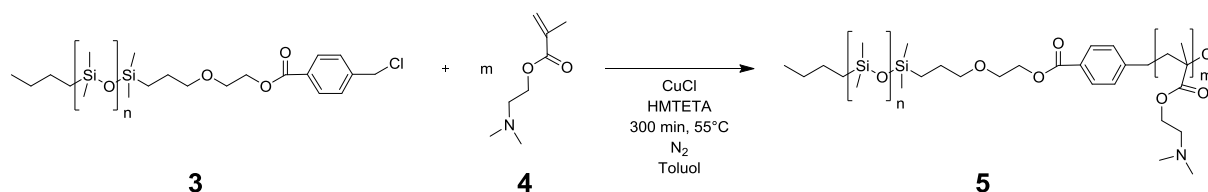


Abbildung 13: Reaktionsschema der ATRP von DMAEMA an PDMS-Cl (5).

Vor der Polymerisation wurde der Stabilisator von dem Monomer DMAEMA 4 mittels Inhibitor Removers entfernt. Daraufhin wurde in einem Stickstoff-Kolben mit Septum 1 eq Kupferchlorid (CuCl) vorgelegt und der Luftsauerstoff durch dreimaligen Vakuum-Stickstoff-Austausch entfernt. Anschließend wurde in einem Kolben mit Septum das DMAEMA (n(DMAEMA) variiert, siehe Tabelle 1), der Ligand 1,1,4,7,10,10-Hexamethyltriethylenetetramine (HMTETA) mit 1 eq und der Hälfte des benötigten Lösungsmittels Toluol (c(DMAEMA) = 5 mol/L) mit Stickstoff für mindestens 30 Minuten begast. Ein weiterer Kolben mit Septum enthält die andere Hälfte des Lösungsmittels Toluol und den Makroinitiator PDMS-Cl 3, welches mit Stickstoff für mindestens 30 Minuten begast wurde. Unter Luftausschluss wurde mittels einer Spritze zunächst die Monomer-Liganden-Lösung in den Schlenkkolben mit Kupferchlorid überführt und langsam auf 55 °C temperiert.

Die Reaktion wurde nach der Zugabe der Initiator-Lösung unter Luftausschluss mittels Spritze gestartet. Für eine Reaktionskontrolle wurde in regelmäßigen Abständen mit einer Spritze eine Probe entzogen. Beendet wurde die Polymerisation nach 5 Stunden durch die Zugabe von THF und Luftsauerstoff. Der Katalysator wurde über eine Aluminiumoxidsäule retardiert. Nach Entfernen des Lösungsmittels wurde das Produkt in 20-fachem Überschuss in kaltem *n*-Hexan ausgefällt. Der hoch viskose, grünliche Rückstand wurde anschließend im Vakuumofen bei 40 °C über Nacht getrocknet. Die Charakterisierung erfolgte mittels ^1H -NMR, GPC (siehe Ergebnisteil 5.2.1 und 5.2.4) und IR-Spektroskopie- (Transmission, KBr) (cm^{-1}): 793 (s, -Si-CH₃), 1013 (s, O-Si-O), 1086 (s, -COOC-), 1259 (s, -Si-CH₃), 1362-1479 (w, -CH₂, -CH₃), 1726 (m, -COOC-), 2769-2820 (v, R₂N-CH₂, R₂N-CH₃), 2962 (w, -CH₂, -CH₃) (siehe Anhang: Abbildung 75).

Die Ausbeute betrug jeweils ca. 60 %.

Tabelle 1: Stoffmengenäquivalente für die Synthese von PDMS-*b*-PDMAEMA

Initiator [PDMSCl]	Ligand [HMTETA]	Lösungsmittel [Toluol]	Monomer [DMAEMA]	Verwendet für Polymer
1	1	43	23	PDMS- <i>b</i> -PSPE ₂₀
1	1	71	38	PDMS- <i>b</i> -PSPE ₃₀
1	1	109	58	PDMS- <i>b</i> -PSPE ₄₀

4.2.1.3 Sulfobetainisierung zum amphiphilen Diblockcopolymer

Um dem Diblockcopolymer PDMS-*b*-PDMAEMA Antifouling Eigenschaften zu verleihen, wurde das primäre Stickstoffatom der Wiederholungseinheit DMAEMA nach der kombinierten Vorschrift von Lowe et al.^{106,107} und Jiang et al.¹⁰⁸ zum Sulfobetain umgewandelt.

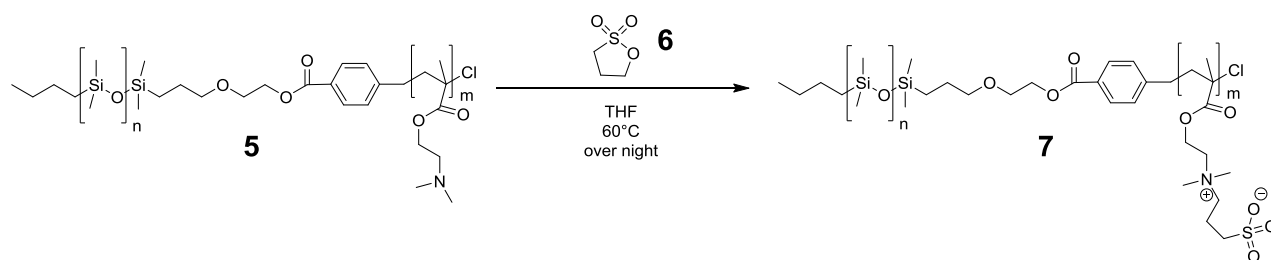


Abbildung 14: Reaktionsschema der Betainisierung von PDMAEMA.

Für die Betainisierung wurde in einem Kolben mit Rückflusskühler 1 eq PDMS-*b*-PDMAEMA **5** in trockenem THF mit einer Konzentration von 0.15 mol/L gelöst und mit Stickstoff für 30 Minuten begast. Nach dem Temperieren der Lösung auf 60 °C wurde ein eineinhalbfacher Überschuss an 1,3-Propansulton **6** bezüglich der zu funktionalisierenden tertiären Aminogruppen hinzugegeben und über Nacht gerührt bis ein gelartiges Produkt entstanden ist. Zur Aufreinigung wurde das Produkt mit Aceton mehrmals gewaschen und abgefiltert. Im Anschluss wurde das Produkt im Vakuumofen bei 40 °C für einen Tag getrocknet. Aufgrund der amphiphilen Struktur und der damit verbundenen schlechten Löslichkeit des Blockcopolymers erfolgte die Charakterisierung über die Vorstufen, welche durch IR und Elementaranalyse bestätigt wurden (siehe Kapitel 5.2.4).

Tabelle 2: Stoffmengenäquivalente für die Synthese PDMS-*b*-PSPE

Polymer	Lösungsmittel	Quarterisierungsreagenz	Verwendet für Polymer
[PDMS- <i>b</i> -PDMAEMA]]	[THF]	[1,3-Propansulton]	
1	400	29	PDMS- <i>b</i> -PSPE ₂₀
1	429	42	PDMS- <i>b</i> -PSPE ₃₀
1	456	63	PDMS- <i>b</i> -PSPE ₄₀

IRSpektroskopie- (Transmission, KBr) (cm⁻¹): 795 (s, -Si-CH₃), 1020 (s, O-Si-O), 1060 (s, -S=O), 1090 (s, -COOC-), 1180 (w, -S=O), 1270 (s, -Si-CH₃), 1400-1475 (w, -CH₂, -CH₃), 1725 (m, -COOC-), 2950 (v, R₂N-CH₂, R₂N-CH₃), 3450 (w, H₂O) (siehe Anhang: Abbildung 76).

4.2.2 Synthese des kationischen Copolymers

4.2.2.1 ATRP von DMAEMA

Die Herstellung des kationischen Copolymers für die *Layer-by-Layer*-Beschichtung wurde nach demselben Prinzip wie die des PDMS-*b*-PSPE realisiert. Mit Hilfe der ATRP wurde zunächst ein Grundpolymer mit (2-Dimethylaminoethyl)methacrylat (DMAEMA) polymerisiert. Hierzu wurde Ethyl- α -Bromoisobutyrat wie in der Vorschrift nach Berndt et al.⁸¹ verwendet.

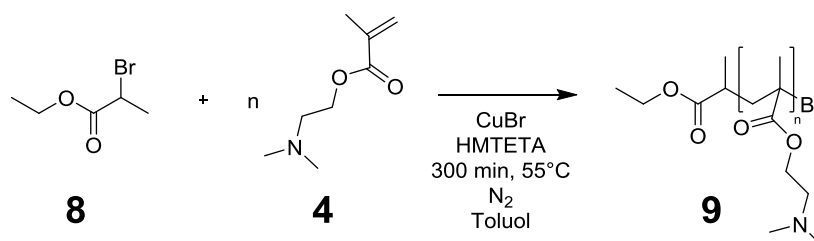


Abbildung 15: Reaktionsschema der ATRP von DMAEMA (9).

Wie in Kapitel 4.2.1.2 beschrieben, wurde vor der Polymerisation zunächst der Stabilisator aus dem Monomer DMAEMA **4** entfernt. In einem Stickstoff-Kolben mit Septum wurde 1 eq Kupferbromid (CuBr) vorgelegt und mittels dreimaligen Vakuum-Stickstoff-Austausches der vorhandene Luftsauerstoff aus dem System entfernt. In zwei weiteren Kolben mit Septum wurde jeweils die Hälfte des Lösungsmittels Toluols mit einer Konzentration von 5 mol/L des Monomers vorgelegt. Zusätzlich wurde in dem einen Kolben 140 eq Monomer DMAEMA und 1 eq des Ligandes 1,1,4,7,10,10-Hexamethyltriethylenetetramine (HMTETA) hinzugefügt. In dem anderen Kolben wurde 1 eq der Initiator Ethyl- α -Bromoisobutyrat **8** ergänzt. Beide Lösungen wurden für mindestens 30 Minuten mit Stickstoff begast. Unter Luftausschluss wurde mittels einer Spritze zunächst die Monomer-Liganden-Lösung in den Schlenkkolben mit dem Kupferbromid überführt und auf 50 °C temperiert. Gestartet wurde die Reaktion durch die rasche Zugabe der Initiator-Lösung unter Luftausschluss. Nach 5 Stunden wurde die Reaktion durch Zugabe von THF und Luftsauerstoff abgebrochen. Für eine Reaktionskontrolle wurde in regelmäßigen Abständen eine Probe entzogen. Das Produkt wurde zunächst über eine Aluminiumoxidsäule zum Entfernen des Katalysators gereinigt. Danach wurde mittels eines Rotationsverdampfers das Lösungsmittel Toluol entfernt und in

einem 20-fachen Überschuss in kaltem *n*-Hexan ausgefällt. Der grünlich viskose Rückstand wurde dann im Vakuumofen bei 40 °C getrocknet und über ^1H -NMR (siehe Anhang: Abbildung 78), IR-Spektroskopie (siehe Anhang Abbildung 77) und GPC (siehe Tabelle 7) charakterisiert.

4.2.2.2 Sulfobetainisierung zum Zwitterion

Um eine Antifouling Eigenschaft dem Polymer PDMAEMA zu verleihen, wurde ein Teil der Wiederholungseinheiten DMAEMA, wie in Kapitel 4.2.1.3 beschrieben, weiter zu einem Zwitterionen umgewandelt. Um Rückschlüsse bezüglich der Funktionalität der Zwitterionen auf die *Layer-by-Layer*-Beschichtung ziehen zu können, wurden unterschiedliche zwitterionische Verhältnisse gewählt. So erfolgte die Betainisierung an 25 % oder 50 % der tertiären Stickstoffe der Wiederholungseinheiten.

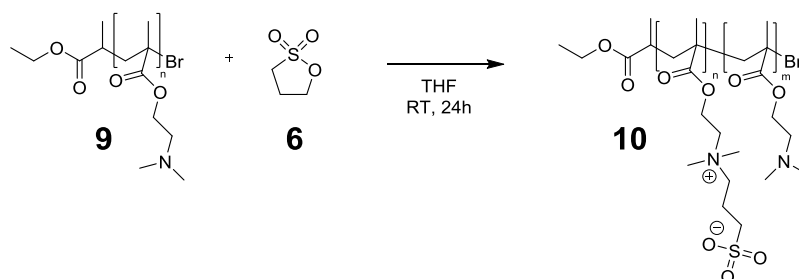


Abbildung 16: Reaktionsschema der Betainisierung von PDMAEMA (**9**).

Die Durchführung der Sulfobetainisierung des Polymers PDMAEMA **9** erfolgte in einem Schlenkkolben mit Rückflusskühler in wasserfreiem THF mit einer Konzentration der Wiederholungseinheit DMAEMA von 0.1 mol/L. Anschließend wurde unter Stickstoff-Atmosphäre die entsprechende Menge an 1,3-Propansulton **6** hinzugefügt, sodass die Konzentration an 1,3Propansulton für 25 % Zwitterionen 0.25 mol/L und für 50 % 0.50 mol-/L entsprach. Die Reaktion wurde durch ein 24-stündiges Rühren bei 60 °C vervollständigt. Das ausgefallene, gelartige Produkt wurde mit THF und Aceton über einen Büchner-Trichter gewaschen und im Vakuumofen bei 40 °C über Nacht getrocknet. Mittels ^1H -NMR (siehe Abbildung 21: ^1H -NMR-Spektrum des PDMAEMA-co-PSPE, gemessen in

Methanol- d_4 . Abbildung 21) und IR-Spektroskopie (siehe Abbildung 32) erfolgte die Charakterisierung.

4.2.2.3 Quarternisierung der DMAEMA-haltigen Polymere

Um den Polymeren einen kationischen Charakter für die *Layer-by-Layer*-Beschichtung zu verleihen, wurden die restlichen primären Stickstoffe der Wiederholungseinheiten PDMAEMA nach Berndt et al.¹⁰⁹ quarternisiert. Zu diesen Zwecken wurde hauptsächlich Methyljodid **11** verwendet.

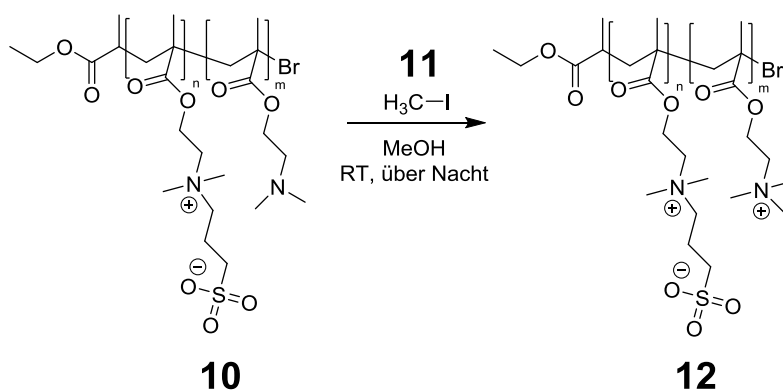


Abbildung 17: Reaktionsschema der Quarternisierung von PDMAEMA-co-PSPE (**10**) mit Methyljodid (**11**).

Hierzu wurde das Polymer PDMAEMA-co-PSPE **10** in Methanol gelöst und mit einem dreifachen Überschuss an Methyljodid **11** (bezogen auf die noch zu quaternisierenden Aminogruppen) versetzt und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Dabei betrug die Methanol Konzentration 0.2 mol/L bezogen auf das Methyljodid. Das ausgefallene Polymer wird dann über einen Büchner-Trichter gereinigt und anschließend im Vakuumofen getrocknet. Das fertige Polymer PTMAEMA-co-PSPE mit 0 %, 25 % oder 50 % Zwitterionenanteil wurde anschließend mittels ¹H-NMR- (siehe Anhang: Abbildung 79) sowie IR-Spektroskopie (siehe Abbildung 32) und Elementaranalyse (siehe Tabelle 7) charakterisiert.

Um dem Polymer zusätzliche antimikrobielle Eigenschaften zu verleihen, wurde vor der Quarternisierung mittels Methyljodid, das Polymer PDMAEMA-co-PSPE mit einer langen hydrophoben Alkylkette an das primäre Stickstoff gebunden.

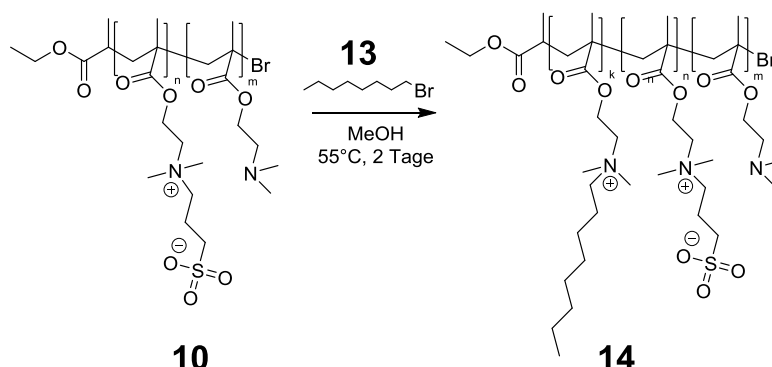


Abbildung 18: Reaktionsschema der Quarternisierung von PDMAEMA-co-PSPE (10**) mit Octylbromid (**13**).**

Dies erfolgte noch vor der Methylierung mittels der Quarternisierung mit Oktylbromid **13** an dem Polymer PDMAEMA-co-PSPE mit 25 % zwitterionischem Anteil **10**. In einem Kolben mit Rückflusskühler wurde das Polymer in Methanol und Oktylbromid gerührt. Dabei betrug die Konzentration von Methanol 0.1 mol/L bezogen auf das Oktylbromid. Es wurde genau so viel Oktylbromid eingesetzt, dass 25 % der vorhandenen Stickstoffatome der Wiederholungseinheit quarternisiert wurden. Die Reaktion wurde für 2 Tage bei 55 °C vervollständigt. Zur Aufreinigung wurde Methanol abgezogen und das Polymer in kaltem *n*Hexan ausgefällt. Nach Trocknen des Polymers im Vakuumofen bei 40 °C wurde das Produkt über ¹H-NMR-Spektroskopie charakterisiert. Im weiteren Schritt folgte die Quarternisierung mit Methyljodid, wie bereits beschrieben.

4.3 Polymercharakterisierungen

4.3.1 Kernspinresonanz-Spektroskopie (NMR-Spektroskopie)

Alle NMR-Messungen erfolgten mit einem Bruker DMX-300 (300 MHz) oder Bruker DRX500 (500 MHz). Die so erhaltenen Spektren dienen der Umsatzbestimmung der Polymerisation und der Strukturaufklärung der Copolymere bezüglich der Zusammensetzung bzw. Blockverhältnisse.

Umsatzbestimmung von der ATRP von DMAEMA

Die Bestimmung des Umsatzes während der ATRP des Monomers DMAEMA wurde mit 300 MHz ¹H-NMR-Spektren in deuteriertem Chloroform aufgenommen. Diese Bestimmung

wurde sowohl für den Makroinitiator PDMS, welcher für die spätere Funktionalisierung via Adsorption/Entrapment-Mechanismus benötigt wird, als auch für Ethyl- α -Bromopropionat, das für das Polymer der *Layer-by-Layer*-Beschichtung verwendet wird, durchgeführt.

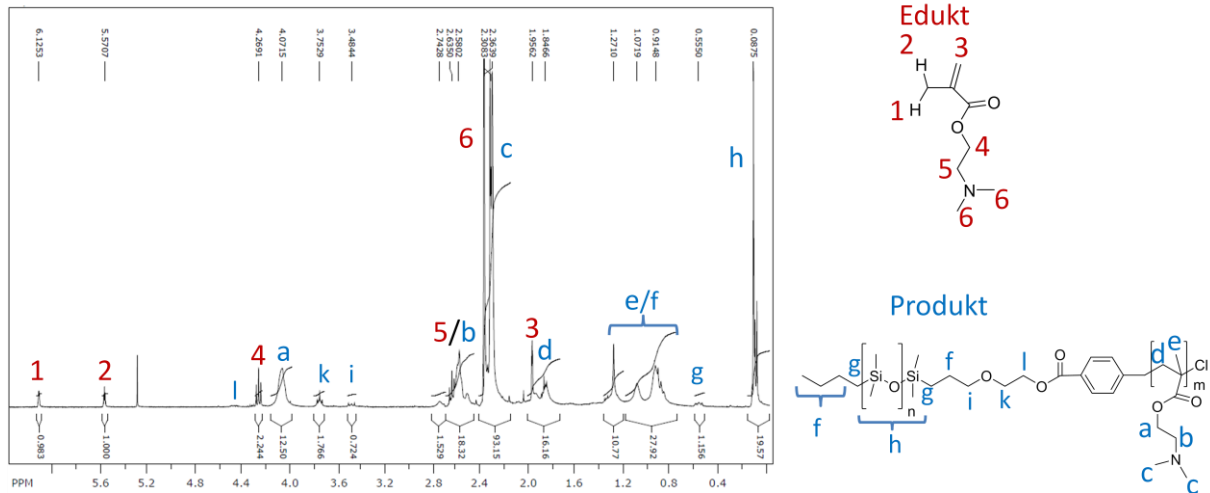


Abbildung 19: ^1H -NMR-Spektrum während der ATRP von DMAEMA mit dem Initiator PDMS-Cl nach 4 Stunden Polymerisationszeit.

Mit den in Abbildung 19 exemplarisch gezeigten Spektren und den erhaltenen Integralen lässt sich die umgesetzte Menge des Monomers bestimmen. Hierzu wurden die erhaltenen Integrale des Peaks bei 4.27 ppm des Eduktes (in Abbildung 19 als Peak 4 gekennzeichnet) und des Peaks bei 4.07 ppm des Produktes (in Abbildung 19 als Peak a gekennzeichnet) herangezogen.

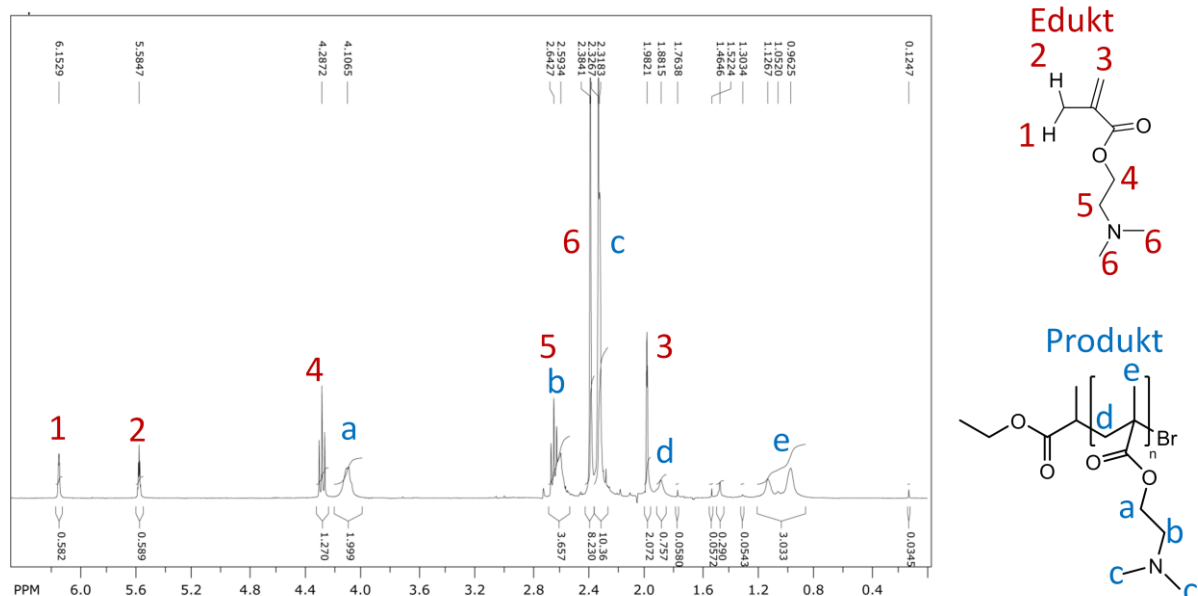


Abbildung 20: ^1H -NMR-Spektrum während der ATRP von DMAEMA mit Initiator Ethyl α -Bromoisobutyrat nach 4 Stunden Polymerisationszeit.

Gleichermaßen erfolgt die Bestimmung der umgesetzten Menge an Monomeren des PDMAEMAs für die *Layer-by-Layer*-Beschichtung durch die erhaltenen Integralen des in Abbildung 20 exemplarisch gezeigten Spektrums. Hierzu wurden ebenfalls die erhaltenen Integrale des Peaks bei 4.29 ppm des Eduktes (in Abbildung 20 als Peak 4 gekennzeichnet) und des Peaks bei 4.11 ppm des Produktes (in Abbildung 20 als Peak a gekennzeichnet) herangezogen.

$$\text{Umsatz [\%]} = \frac{\int_{4.00}^{4.15} f(x)}{\int_{4.00}^{4.15} f(x) + \int_{4.20}^{4.35} f(x)} \cdot 100\% \quad \text{Formel 5}$$

mit $\int_{4.00}^{4.15} f(x)$ Integral für PDMS-*b*-PDMAEMA bzw. PDMAEMA (Peak a des Produktes) und $\int_{4.20}^{4.35} f(x)$ Integral für DMAEMA (Peak 4 des Monomers).

Bestimmung der Zusammensetzung

Die Bestimmung des zwitterionischen Anteils von PTMAEMA-co-PSPE und des quarternisierten Anteils mit Oktylgruppen erfolgte mittels ^1H -NMR-Spektrum mit 500 MHz. Dafür wurden die Integrale der Signale, die jeweils eindeutig zu den jeweiligen Seitenketten zugeordnet werden konnten, ins Verhältnis gesetzt.

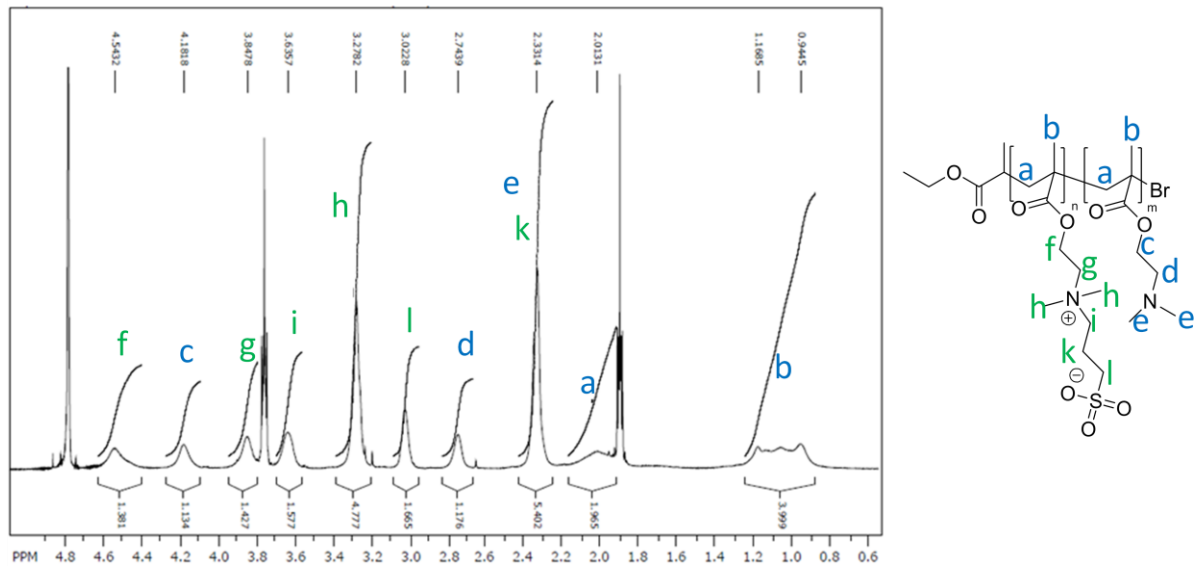


Abbildung 21: ^1H -NMR-Spektrum des PDMAEMA-co-PSPE, gemessen in Methanol- d_4 .

Zur Bestimmung des zwitterionischen Anteils werden die Methylgruppen, die eine ähnliche chemische Umgebung aufweisen und in der Abbildung 21 als Peak c und f gekennzeichnet sind, miteinander verglichen. Der prozentuale zwitterionische Anteil lässt sich mit folgender Formel berechnen:

$$\text{zwitterionischer Anteil [\%]} = \frac{\int_{4.40}^{4.70} f(x)}{\int_{4.40}^{4.70} f(x) + \int_{4.05}^{4.25} f(x)} \cdot 100\% \quad \text{Formel 6}$$

$$\int_{4.40}^{4.70} f(x) \quad \text{Integral der Methylgruppe für den zwitterionischen Anteil (Peak f)}$$

$$\int_{4.05}^{4.25} f(x) \quad \text{Integral der Methylgruppe für das nicht betainisierten Anteil (Peak c)}$$

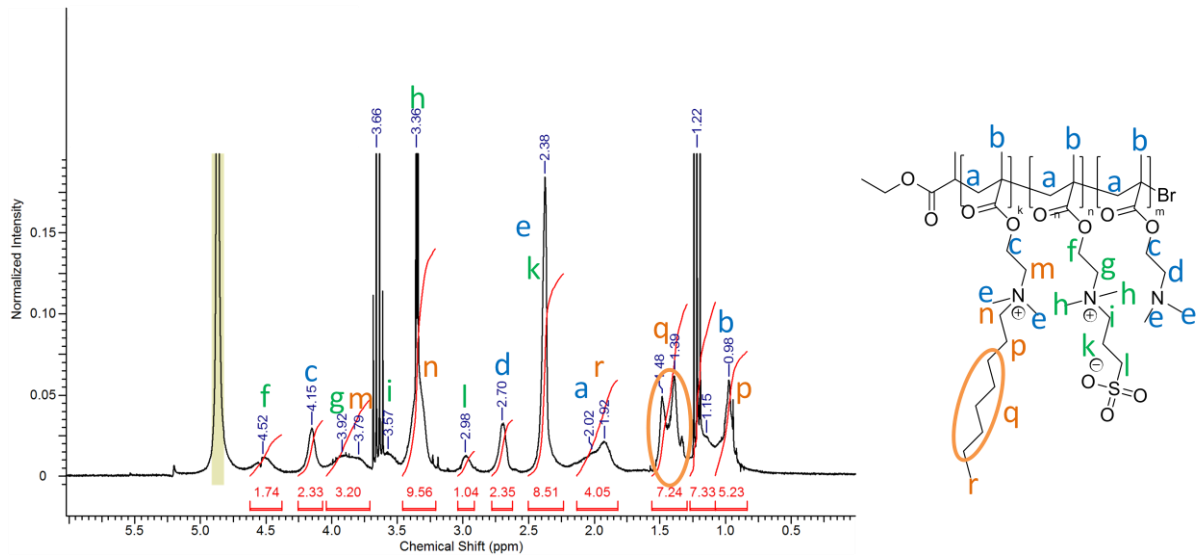


Abbildung 22: ^1H -NMR-Spektrum des PDMAEMA-co-PSPE + Oktylrest, gemessen in Methanol- d_4 .

Zur Bestimmung des Quarternierungsgrades mit dem Oktylrest wurde das Integral der Peaks der Methylgruppen des Oktylrestes bei 1.39 ppm und 1.48 ppm (in der Abbildung 22 als q bezeichnet) im Vergleich zu den Methylgruppen, welche direkt an den Ester gekoppelt sind, (in der Abbildung 22 als Peak c und f gekennzeichnet) genommen.

$$\text{Oktylgruppen Anteil [\%]} = \frac{\int_{1.30}^{1.60} f(x)/10}{\int_{1.30}^{1.60} f(x)/10 + \left(\int_{4.40}^{4.70} f(x) + \int_{4.05}^{4.25} f(x) \right)/2} \cdot 100\% \quad \text{Formel 7}$$

$\int_{1.30}^{1.60} f(x)$ Integral der Methylgruppen des Oktylrest (Peak q)

$\int_{4.40}^{4.70} f(x)$ Integral der Methylgruppe für den zwitterionischen Anteil (Peak f)

$\int_{4.05}^{4.25} f(x)$ Integral der Methylgruppe für das nicht betainisierten Anteil (Peak c)

Bestimmung des Methylierungsgrades

Zur Bestimmung des Quarternierungsgrades mittels Methyliodid wurde nur indirekt über das Verschwinden der Peaks bei 2.74 ppm und 4.16 ppm bei der Aufnahme eines 500 MHz ^1H -NMR Spektrums des methylierten Produktes in Methanol- d_4 (siehe Anhang: Abbildung 79) nachgewiesen. Die Abwesenheit der Methylgruppen in chemischer Umgebung eines tertiären Stickstoffes weist auf eine vollständige Quarternisierung des Polymers PDMAEMA hin.

4.3.2 Gelpermeationschromatographie-Messungen (GPC)

Die Gelpermeationschromatographie (GPC), die auch Größenausschlusschromatographie genannt wird, liefert Aussagen über die Molmassen und die Polydispersität der Polymere. Dabei werden die stark solvatisierten Makromoleküle auf Grund ihres hydrodynamischen Durchmessers aufgetrennt. Die stationäre Phase besteht aus einem porösen Gel mit unterschiedlicher Porengrößenverteilung. Meist werden hierfür Silica-Gel oder vernetzte Polystyrole verwendet. Das Polymer wird stark verdünnt mobile Phase bei stetigem Lösemittelstrom auf die stationäre Phase der Trennungssäule eluiert. Beim Durchlaufen der Säule erfolgt die Trennung aufgrund der verschiedenen Elutionszeiten. Kleinere Makromoleküle diffundieren tiefer in die Poren der stationären Phase hinein und besitzen daher eine längere Aufenthaltsdauer. Die größeren Makromoleküle retardieren auf Grund der kleineren Poren weniger und verlassen die stationäre Phase somit zuerst. Das Besondere bei diesem Trennverfahren ist, dass die zu analysierte Probe keinerlei chemische oder physikalische Wechselwirkungen mit der stationären Phase eingeht. Bei der konventionellen Kalibrierung erfolgt die Bestimmung der Molmasse mittels Referenzsubstanzen, welche eine definierte, engverteilte Molmasse besitzen. Hierbei muss beachtet werden, dass sich die zu bestimmenden Makromoleküle gegebenenfalls durch ihre abweichende räumliche Beanspruchung und Solvatisierung anders verhalten als die Referenzsubstanzen, sodass Abweichungen zwischen gemessener und tatsächlicher Molmasse auftreten können. Für komplexere Polymere wird daher meistens die universelle Kalibrierung verwendet. Dabei wird das System mit einem Differential-Viskosimeter-Detektor gekoppelt, womit die intrinsische Viskosität sich bestimmen lässt. Durch die Mark-Houwink Beziehung lässt sich eine Korrelation zwischen intrinsischer Viskosität und der Molmasse bestimmen. Der Vorteil liegt hierbei darin, dass sich die strukturellen und chemischen Eigenschaften des zu untersuchenden Makromoleküls von der Referenzsubstanz unterscheiden dürfen. In dieser Arbeit wurden ähnliche Molmassen durch beide Kalibrierungsmethoden vermessen. Allgemein beruhen alle in der Arbeit angegebenen Molmassen auf der konventionellen Kalibrierung mit Poly(methylmethacrylat) als Referenzsubstanz. Als Eluent wurde bei den Messungen DMF mit 0.01 mol/L Lithiumbromid genutzt. Die verwendete GPC-Anlage besteht aus einer Pumpe (Jasco PU-2080), einem Brechungsindexdetektor (Shodex RI-71) und der Säule (PSS Gram lin 10 μ m). Das Injektionsvolumen von der 4 g/L Polymerlösung

betrug 200 μL und die Flussrate war 1 mL/min bei 23 °C. Die Datenerfassung und -auswertung wurde mit Hilfe von PSS winGPC 6.2 durchgeführt.

4.3.3 Abgeschwächte Totalreflexions-Infrarot-Spektroskopie (ATR-IR-Spektroskopie)

Mit Hilfe der Infrarot-Spektroskopie (IR-Spektroskopie) wurden die hergestellten Polymere charakterisiert. Alle Messungen wurden mit dem Gerät 3100 FT-IR Excalibur der Firma Varian (MCT Detektor, Ge-Kristall, ATR-Aufsatz Miracle) bei Raumtemperatur durchgeführt. Durch die Messung der charakteristischen Banden der einzelnen Komponente, können die Polymere und das Blockverhältnis charakterisiert werden.

4.3.4 Elementaranalyse (EA)

Mit der CHNS-Methode der Elementaranalyse (EA) wurden die Elemente Kohlenstoff, Wasserstoff, Stickstoff und Schwefel der Analysesubstanz quantitativ erfasst. Die zu analysierende Probe wurde mit einem Zuschlag von V_2O_5 in einem Pyrolysereaktor vollständig verbrannt. Die dadurch entstehenden Verbrennungsgase wurden gaschromatographisch in einem *Euro EA* Gerät von *Vector Instruments* vermessen.

4.3.5 Bestimmung der kritischen Mizellbildungskonzentration (CMC)

Die kritische Mizellbildungskonzentration, oder im englischen *critical micelle concentration* (CMC) genannt, ist eine charakterisierende Konzentration eines amphiphilen Moleküls in Lösung, bei der sich Mizellen bilden. In dieser Arbeit wurde die CMC über Fluoreszenz-Spektroskopie nach Zugabe des Fluoreszenzfarbstoffes Pyren vermessen. Dabei wird bei unterschiedlichen Polymerkonzentrationen die Veränderung der Fluoreszenzintensität des Pyrens ermittelt. Unterhalb des CMC befindet sich das amphiphile Polymer einzeln in der umgebenden Flüssigkeit. Durch die Erhöhung der Konzentration des amphiphilen Polymers beginnt die Bildung von Mizellen. Als umgebende Flüssigkeit wird meist ein hydrophiles Lösungsmittel gewählt, sodass die hydrophoben Pyrenmoleküle bevorzugt in den Mizellen

innen lagern. In dieser Arbeit wurde DMF und 1 M Salzsäure als Lösungsmittel getestet. Die Veränderung der Umgebung des Pyren kann fluoreszenzspektroskopisch durch die Intensitätsverhältnisse der Peaks bei einer Wellenlänge von 373 nm und 393 nm wahrgenommen werden.

Wie in der Literatur¹¹⁰ beschrieben, wurde eine 0.2 mmol/L Pyren-Stammlösung in Ethanol und eine Polymerkonzentrationsreihe von 0.0001 g/L bis 20 g/L in DMF und 0.0001 g/L bis 5 g/L für 1 M Salzsäure angesetzt. Anschließend wurde die Polymerlösung mit der Pyrenlösung gemischt, sodass die Konzentration an Pyren 1 µmol/L betrug. Nach zweistündiger Äquilibrierung im Dunkeln wurden die Proben mit dem Fluoreszenzspektrometer der Firma Varian „Cary Eclipse“ bei einer Anregungswellenlänge von 343 nm und einer Emission von 360 nm bis 420 nm vermessen. Die Auswertung erfolgte mittels des Programms „Scan“.

4.4 Beschichtungsverfahren

In diesem Abschnitt werden zwei verschiedene Beschichtungsverfahren beschrieben. Zum einem die Adsorption/Entrapment-Methode an PDMS-Kathetermaterial und zum anderen die *Layer-by-Layer*-Beschichtung auf Silizium-Wafer und dem PDMS-Kathetermaterial. Um eine kationische Oberfläche für die *Layer-by-layer*-Beschichtung zu erhalten, wurden sowohl die Silizium Wafer als auch das Kathetermaterial mit 3Aminopropyltriethoxysiloxan (APTS) modifiziert.

4.4.1 Funktionalisierung via Adsorption/Entrapment

Das PDMS-Ballon- und Schlauchmaterial wurde auf eine Größe von 3.2 mal 1 cm geschnitten oder für die Zeta-Potential-Messung auf 14 mm ausgestanzt. Um potentielle Verunreinigungen zu entfernen, wurden die Proben dreimal in Ethanol für 30 Minuten und mit Milli-Q-Wasser gewaschen und getrocknet. Jede gewaschene Probe wurde jeweils für 15 Minuten in 20 mL Tetrahydrofuran (THF) gequollen. Nachfolgend wurden die gequollenen Proben in 20 mL der Funktionalisierungslösung für 30 Minuten bei Raumtemperatur eingelegt und die Proben entquellten wieder. Für jedes PDMS-*b*-PSPE-Polymer mit

unterschiedlicher zwitterionischer Kettenlänge wurde eine Funktionalisierungslösung mit 1 molarer Salzsäure und einer Konzentration von 2.5 g/L hergestellt. Im Anschluss folgte die dreimalige Reinigung durch die jeweils 30minütige Einlagerung in 20 mL Milli-Q-Wasser auf einer Schüttelplatte.

4.4.2 Silanisierung von Silizium-Wafer

Die Silizium-Wafer (Si-Wafer) von der Firma *SilCem* wurden für 45 Minuten in Piranha-Lösung mit einem Mischungsverhältnis von 1:1 eingelegt. Im Anschluss wurden die Proben gründlich mit Milli-Q-Wasser gereinigt und 10 Minuten in Ethanol eingelegt. Unter Stickstoff-Atmosphäre wurden die getrockneten Si-Wafers in einer 5 %igen APTS-Toluol-Lösung bei 110°C unter Rückfluss für 45 Minuten eingelegt und im Anschluss mit Toluol und Ethanol gereinigt. Zur Charakterisierung wurde von den Proben der Kontaktwinkel bestimmt und stichprobenartig wurden die vorhandenen Aminogruppen auf der Oberfläche mittels Ninhydrin-Test überprüft.

4.4.3 Silanisierung von PDMS-Kathetermaterial

Das PDMS-Kathetermaterial wurde, wie in Kapitel 4.4.1 beschrieben, zugeschnitten und gereinigt. Im Anschluss wurde jede Probe in 20 mL Lösung aus Wasser, Wasserstoffperoxid und Salzsäure im Verhältnis 5:1:1 für 5 Minuten eingelegt, wodurch die Oberfläche oxidiert wurde¹¹¹. Danach wurden die Proben für 10 Minuten in jeweils 20 mL 10 %iger APTSEthanol-Lösung eingelegt¹¹². Nach der Behandlung mit APTS wurden die Proben mit Ethanol gewaschen und für mindestens 30 Minuten in Ethanol gelagert, um eine möglichst ausgiebige Vernetzung des APTS zu erreichen. Überprüft wurde die Modifikation mittels Kontaktwinkel. Stichpunktartige Proben zur Überprüfung der primären Aminogruppen erfolgten mit Hilfe des Ninhydrin-Tests.

4.4.4 Funktionalisierung via Polyelektrolyt Multischichten

Als Oberflächenmaterial dienten sowohl die silanisierten Si-Wafer als auch die silanisierten PDMS-Kathetermaterialien. Zunächst wurden die wässrigen Polyelektrolyt-Lösungen hergestellt. Hierfür wurde jeweils das synthetisierte, kationische Polymer PTMAEMA-co-PSPE und das Poly(styrolsulfonat) (PSS) mit einer Konzentration von 10^{-3} mol/L auf einen pHWert- von 6 eingestellt. In dieser Arbeit wurde das Eintauchverfahren nach Decher et al.¹¹³ für den Aufbau der *Layer-by-Layer*-Multischichten angewendet. Hierbei wurde die Oberfläche in die Polyelektrolyt-Lösung, welche in Bezug auf die Oberfläche eine entgegengesetzte Ladung besaß, für 10 Minuten eingetaucht. Danach wurde diese gründlich mit MilliQ-Wasser gewaschen und zweimal jeweils für 5 Minuten in MilliQ-Wasser gelagert. In dieser Arbeit wurde für die erste Schicht die negativ geladene Polyelektrolyt-Lösung mit dem Polymer PSS verwendet. Nachfolgend wurden die Oberflächen alternierend in die entgegengesetzt geladene Polyelektrolyt-Lösung eingetaucht und jedes Mal mit dem Waschvorgang abgeschlossen. Die einzelnen Schichten wurden mittels Kontaktwinkel, Ellipsometrie, Zeta-Potential- und XPS-Messungen charakterisiert. Im Standardprotokoll wurde ein 6 Schichtensystem hergestellt, sodass der letzte Eintauchzyklus durchgehend in der kationischen Polyelektrolyt-Lösung stattfand. Für die kontaktbiozide Antifouling Beschichtung wurde nur die letzte Schicht mit dem PTMAEMA-co-PSPE mit Octyl-Rest versehen, ansonsten wurde das 25 % PTMAEMA-co-PSPE für das Schichtsystem verwendet.

Charakterisiert wurden die beschichteten Systeme mit Kontaktwinkel-, Zeta-Potential-, AFM-Messung und Biofouling Tests.

4.4.5 Immobilisierung von Cellobiose Dehydrogenase

Die Immobilisierung des negativ geladenen Enzyms Cellobiose Dehydrogenase (CDH) erfolgte mittels der *Layer-by-Layer*-Beschichtung. Hierzu wurde die Vorschrift von Ram et al. für das Enzym Cholesterol Oxidase herangezogen¹¹⁴. Zunächst wurde eine Enzym-Lösung mit einer Konzentration von 1 mg/mL CDH in einem 10^{-3} mol/L Natriumacetat/Essigsäure-Puffer mit einem pH-Wert von 4 hergestellt. Die silanisierten Oberflächen durchlaufen, wie in Kapitel 4.4.4 beschrieben, die Eintauchzyklen, jedoch wurde diesmal eine PSS-Schicht durch das

Eintauchen in die CDH Enzym-Lösung ersetzt. Das Enzym CDH befand sich entweder in der dritten oder in der fünften Schicht des 6-Schichtensystems. Die Charakterisierung der Enzyme erfolgte über BCA-Kit und Amplex-Red-Assay (siehe Kapitel 4.6).

4.5 Oberflächencharakterisierungen

4.5.1 Ninhydrin-Nachweis

Die Überprüfung der Existenz primärer Aminogruppen des APTS auf der Oberfläche erfolgte mittels des Ninhydrin-Nachweises. Hierzu wurde auf die zu untersuchende Oberfläche eine 2 % (w/v) Ninhydrin-Ethanol-Lösung aufgetropft und die Proben bei einer Temperatur von 60 °C für 10 Minuten inkubiert. Der charakteristische Farbumschlag des Ninhydrins dient als qualitativer Nachweis von primären Aminen oder Aminosäuren¹¹⁵.

4.5.2 Kontaktwinkelmessungen

Mittels des Kontaktwinkels wird die Benetzungseigenschaft einer Oberfläche beschrieben. An der Form eines Tropfens lässt sich die Benetzbarkeit charakterisieren. Hierfür wird an der Drei-Punkt-Phasengrenze von fest, flüssig und gasförmig der Kontaktwinkel bestimmt. Dabei hängt die Größe des Kontaktwinkels von den Wechselwirkungen zwischen den Stoffen an der Berührungsfläche ab. Je höher die Wechselwirkungen zwischen der Flüssigkeit und der Oberfläche sind, desto kleiner wird der Kontaktwinkel. Liegt der Kontaktwinkel unter 90 °, handelt es sich in der Regel um eine hydrophile Oberfläche. Zur Bestimmung des Kontaktwinkels werden zwei unterschiedliche Methoden, wie in Abbildung 23 dargestellt, unterschieden.

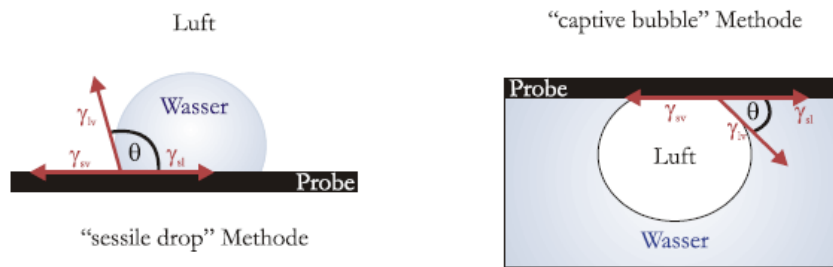


Abbildung 23: Schematische Darstellung der Bestimmung eines Kontaktwinkels mittels „sessile drop“-Methode und „captive bubble“-Methode¹¹⁶.

Zum einen die „sessile drop“-Methode, bei welcher ein Tropfen der Flüssigkeit mit bestimmtem Volumen auf der Oberfläche vermessen wird. Zum anderen die „captive bubble“-Methode; dabei befindet sich die zu untersuchende Oberfläche in flüssigem Medium und es wird eine Gasblase mit einem bestimmten Volumen von unten auf die Oberfläche aufgebracht.

In dieser Arbeit erfolgten alle Kontaktwinkelmessungen mit dem *Contact Angle System OCA 15 Plus* von *Dataphysics* bei einer Temperatur von 22 °C und unter Verwendung von MilliQ-Wasser als Flüssigkeit. Der Tropfen wurde mittels einer 0.5 mL Hamilton-Spritze und einem Volumen von 5 μ L aufgegeben. Als Methode wurde für die Si-Wafer die „sessile drop“-Methode und das Young-Laplace-Fitting gewählt. Dabei wurden in dieser Arbeit die Mittelwerte von 15 Messwerten pro Oberfläche dreier unabhängiger Messungen angegeben. Für das Kathetermaterial wurde die „captive bubble“-Methode und das Ellipse-Fitting gewählt. Die in dieser Arbeit angegebenen Kontaktwinkel sind dabei die Mittelwerte von mindestens 8 Messwerten von mindestens 3 unabhängigen Proben.

4.5.3 Zeta-Potentialmessungen

Mit Hilfe der Zeta-Potentialmessung wird das elektrische Potential der Abscherebene an der Grenzfläche gemessen. Aufgrund der Ladung der Oberfläche bildet sich eine diffuse Anordnung an frei beweglichen Ionen aus der Umgebung, sodass sich die Oberfläche in einem chemischen Gleichgewicht mit der Elektrolytlösung befindet. Dabei hängt die Anordnung von elektrostatischen Wechselwirkungen der Oberfläche sowie Dissoziationen

von Molekülgruppen in der Lösung ab. Die dabei resultierende elektrochemische Doppelschicht wird durch das Stern-Modell beschrieben^{117,118} (Abbildung 24).

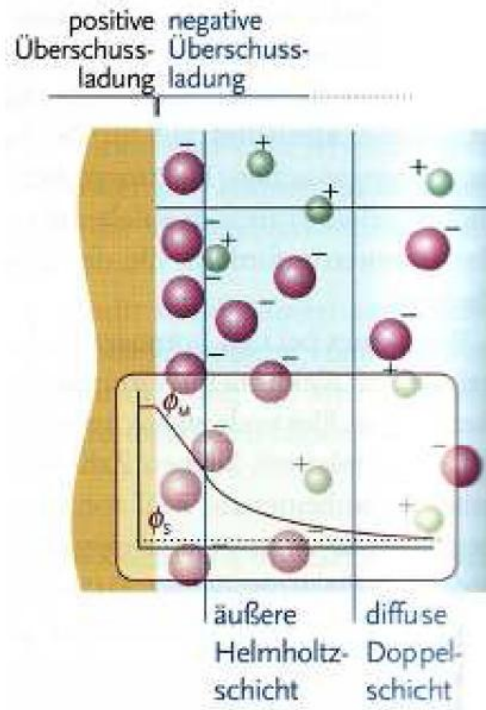


Abbildung 24: Schematische Darstellung des Stern-Modells¹¹⁹.

Dieses besteht aus einer sogenannten starren Helmholtz-Schicht, welche direkt an der Oberfläche angrenzt und einen Ladungsüberschuss trägt. Daraufhin folgt nach dem Gouy-Chapman-Modell eine diffuse Schicht, welches die Elektronenneutralität wieder herstellt. Dabei nimmt das Potential zunächst linear durch die starre Schicht ab, bevor es dann exponentiell durch die diffuse Doppelschicht auf Null abfällt. An diesem Übergang entsteht eine Abscherebene, dessen Potential als das Zeta-Potential angeführt wird.

In dieser Arbeit wird das Zeta-Potential durch das Strömungspotential, welches entsteht, wenn die locker gebundene diffuse Schicht unter der Strömung abgeschert wird und die Oberfläche wieder ein Potential aufweist, gemessen.

Ein Zusammenhang mit dem Zeta-Potential wird durch die Helmholtz-Schmoluchowski-Gleichung gegeben ¹²⁰:

$$\zeta = \frac{\Delta I}{4p} \cdot \frac{\eta}{\varepsilon \cdot \varepsilon_0} \cdot \frac{L}{A}$$

Formel 8

ζ	Zeta-Potential
I	Strömungsstrom
η	Viskosität
ε	relative Dielektrizitätskonstante
ε_0	Dielektrizitätskonstante
L	Länge des Strömungskanals
A	Fläche des Strömungskanals

In dieser Arbeit wurden alle Zeta-Potential-Messungen am Gerät *SurPass* von *Anton Paar* durchgeführt. Für die Si-Wafer wurde eine *adjustable gap cell* (*Anton Paar*) mit der Stempelmesszelle von 2 x 1 cm² und für das Kathetermaterial eine runde Stempelmesszelle mit einem Durchmesser von 1.4 cm verwendet. Für beide Stempelmesszellen wurde eine Spaltbreite von 100 ± 5 µm eingestellt. Als Elektrolyt wurde eine 1 mmol/L wässrige Kaliumchlorid-Lösung verwendet. Die Messungen erfolgten für den pH-Bereich von 3 bis 10 und für die Zwischenschritte bei den *Layer-by-Layer*-Ablagerungen in einen pH-Bereich von 5 bis 8.

4.5.4 Ellipsometrie

Die Bestimmung der einzelnen Schichtdicken bei der *Layer-by-Layer*-Beschichtung erfolgte mittels Ellipsometrie. Dabei handelt es sich um eine optische Methode, welche die Änderung des Polarisationszustandes misst. Durch die Reflektion des polarisierten Lichtes an der Oberfläche verändert sich der Polarisationszustand, der über die Bestimmung der Lichtintensität quantifiziert werden kann.

In dieser Arbeit wurde das Ellipsometer *MM-16* der Firma *HORIBA Jobin Yvon* verwendet. Der verwendete Einfallswinkel betrug bei allen Messungen 70 ° und es wurde in einem Wellenlängenbereich zwischen 430 nm und 830 nm gemessen. Die Schichtdicken wurden nach der APTS-Beschichtung bei Raumtemperatur vermessen. Als Brechungsindex wurde 1.499 für das Polyanion verwendet und für das neu hergestellte Polykation wurde mit Hilfe

eines Refraktometers ein Brechungsindex von 1.395 bestimmt. Zur Berechnung der Schichtdicken durch die Veränderung des Polarisationszustandes sowie des Depolarisationswinkels der Beschichtungen wurde die Müller-Matrix zu Hilfe genommen. Bei der Ellipsometrie können der Brechungsindex und die Schichtdicke nur für die erste Schicht genau bestimmt werden. Für die weiteren Schichten können nur Näherungen bezüglich der optischen Parameter ermittelt werden, sodass die Genauigkeit auf vier Schichten begrenzt ist.

4.5.5 Photoelektronenspektroskopie

Die Photoelektronenspektroskopie, oder im englischen *X-ray induced photoelectron spectroscopy* (XPS) genannt, ist eine sehr sensitive Oberflächenanalysemethode, welche Aufklärung über die Zusammensetzung der Elemente und ihrer chemischen Bindungszustände an der Oberfläche geben kann. Dabei beruht das Messprinzip auf dem Photoeffekt, bei dem Photoelektronen durch monochromatische Röntgenbestrahlungen aus der Oberfläche „herausgeschossen“ werden. Dabei besitzen die Photoelektronen eine charakteristische kinetische Energie, welche abhängig von dem Element und dessen chemischen Umgebung wie Bindungszustand und Wertigkeit ist ¹²¹.

In dieser Arbeit wurde die chemische Zusammensetzung der Polymerfilme, welche durch die *Layer-by-Layer*-Beschichtung mit dem Polyanion PSS und Polykation PTMAEMA beschichtet wurden, auf Si-Wafer und dem Kathetermaterial vermessen. Die XPS-Messung erfolgt mit der *Versaprobe IITM* von *Ulvac-Phi*. Dabei wurden alle Proben nacheinander unter den gleichen Bedingungen gemessen und die Photoelektronen senkrecht zur Probe detektiert. Von jedem Signal wurden dreißig hochauflösende Scans vermessen. Fokussiert wurde sich in dieser Arbeit auf die Bindungsenergien von Kohlenstoff bei 285.4 eV, Stickstoff bei 400.8 eV, Sauerstoff bei 532.7 eV und Schwefel bei 169.5 eV.

4.5.6 Rasterkraftmikroskopie

Das Rasterkraftmikroskop, im englischen auch *atomic force microscope* (AFM) genannt, ist eine sensitive Methode zur Bestimmung der Oberflächenstrukturen. Dabei wird die

Probenoberfläche rasterartig mit einer Sondenspitze abgeführt. Durch den sehr empfindlichen Federarm kann durch die auf die Spitze ausgeübte Kraft Information über die Probentopographie geben.

In dieser Arbeit wurden die Topographien des PDMS Kathetermaterials zur Analyse der *Layer-by-Layer*-Modifizierung unter Verwendung des Autoprobe *CP Research* und *Nanoscope IIIa controller* jeweils von *Veeco Instrument* untersucht. Die Auswertung erfolgt mit dem Programm *Nano Scope Analysis V150 Manual*.

4.6 Mikrobiologische Untersuchungen

4.6.1 Mikro BCA Assay

Mit Hilfe des *Micro BCATM Protein Assay Kit* von *Pierce Biotechnology* lässt sich die Proteinkonzentration kolorimetrisch bestimmen. Dabei beruht dieses Verfahren darauf, dass durch die im Protein anwesenden Aminogruppen mit Hilfe von Bicinchoninsäure (BCA) Cu^{2+} zu Cu^+ reduziert wird¹²². Hierbei entsteht unter basischen Bedingungen ein violettfarbener Chelatkomplex aus zwei BCA Molekülen mit einem Kupferion (Cu^+), welcher anschließend bei einer Wellenlänge von 562 nm photometrisch erfasst werden kann.

Das Mikro BCA Assay wurde in dieser Arbeit für zwei unterschiedliche Bestimmungen angewandt. Jedoch erfolgte die jeweilige Quantifizierung der Stoffmenge gleich. Dazu wurden zunächst eine Standardverdünnungsreihe der jeweils zu untersuchenden Proteine oder Enzyme im Konzentrationsbereich von 0.5 µg/mL bis 50 µg/mL angesetzt. In jedes einzelne Well einer 96-Well-Mikrotiterplatte wurden 150 µL von jeder Standard- und Proteinprobe jeweils mit einer 3-fach Bestimmung pipettiert. Anschließend wurde zu jeder Probe noch 150 µL der Arbeitslösung des Micro BCA Kit hinzugefügt und direkt für 2 Stunden bei 37 °C auf der Schüttelplatte inkubiert. Im Anschluss erfolgte die photometrische Bestimmung mit dem Gerät *µQuant* von *Bio-Tek Instruments Inc.*. Die Proteinkonzentration wurde anhand der Standardkurve evaluiert.

4.6.1.1 Adsorptionstest

Für die mittels Adsorption/Entrapment funktionalisierten Proben wurde das Micro BCA Assay zur Quantifizierung von statischer Proteinadsorption genutzt^{123–125}. Als Proteine wurden dabei in unterschiedlichen Versuchen zum einen Myoglobin und zum anderen Bovine Serum Albumin (BSA) verwendet. Die zu untersuchenden PDMS Proben wurden auf einen Durchmesser von 25 cm gestanzt und wie in Kapitel 4.4.1 beschrieben funktionalisiert. Für den Vergleich wurden Blindproben ohne Funktionalisierung durch dieselbe Prozedur mit vorbereitet. Für jede Probe wurde jeweils eine dreifache Bestimmung in unabhängigen Experimenten durchgeführt. Die Proben wurden hierfür mit 3 mL einer 1 g/L Protein-Lösung aus 100 mM Phosphat Puffer mit dem pH-Wert von 7.4 bei unterschiedlichen Zeiten (1, 2 und 3 Stunden) bei einer Temperatur von 37 °C auf der Schüttelplatte inkubiert. Dabei wurde darauf geachtet, dass die Proben vollständig mit der Proteinlösung bedeckt waren. Nach der Inkubation wurden die Proben aus der Proteinlösung herausgenommen und mit Phosphat-Puffer und einer 1 wt% wässrigen Natriumlaurylsulfat-Lösung (SDS) abgewaschen. Im Anschluss wurden die Proben mit 3 mL 1 wt% SDS-Lösung vollständig bedeckt und die adsorbierten Proteine durch ein 20-minütiges Ultraschallbad von der PDMS-Oberfläche gelöst. Mittels der so entstandenen Protein-SDS-Lösung wurde die Konzentration der statisch adsorbierten Proteine mit dem Mikro BCA Assay vermessen. Aufgrund des nicht ausreichenden Materials erfolgten die Tests ausschließlich mit dem Schlauch Material.

4.6.1.2 Quantifizierung der immobilisierten Enzyme

Mittels des BCA Protein Assay erfolgte die Bestimmung der auf den Proben immobilisierten Menge an Enzymen. Hierzu wurden die PDMS-Proben auf einen Durchmesser von 1 cm gestanzt und wie in Kapitel 4.4.5 beschrieben via *Layer-by-Layer*-Beschichtung mit dem Enzym CDH immobilisiert. Als letzte Schicht wurde jedoch jeweils die Enzym-Schicht verwendet, sodass die Enzyme leichter der Arbeitslösung des BCA Assay ausgeliefert waren. Da es sich bei dem Test um einen indirekten Nachweis der immobilisierten Enzyme handelt, ist das Assay stets von der Zugänglichkeit der im Enzym anwesenden Aminogruppen abhängig. Zudem können Wechselwirkungen zwischen der Oberfläche und dem Reagenz von jenen zwischen Reagenz und dem Enzym nicht unterschieden werden, sodass als Referenz

eine Vergleichsprobe dient. Dabei wurde bei denen Vergleichsproben die *Layer-by-Layer*-Beschichtung jeweils eine Schicht vor der Enzym Immobilisierung abgebrochen. Von allen Proben wurde eine Dreifach-Bestimmung von unabhängigen Experimenten durchgeführt. Dazu wurden die Proben mit 1.5 mL der Arbeitslösung des BCA Protein Kit vollständig bedeckt und für 2 Stunden bei 37 °C auf der Schüttelplatte inkubiert, um dann, wie in Kapitel 4.6.1 beschrieben, mit Hilfe des *BCA Protein Kits* die Enzymmenge zu bestimmen.

4.6.2 Bestimmung der Enzym Aktivität

Zur Bestimmung der Enzym Aktivität der immobilisierten Cellulose Dehydrogenase (CDH) wurde die entstehende Wasserstoffperoxid-Konzentration mittels des *Amplex Red Hydrogen Peroxide/Peroxidase Assay Kits* von *ThermoFisher Scintifice* verwendet ¹²⁶. Bei Amplex Red handelt es sich um ein Derivat des Resorufin, welches durch die Oxidation mit Wasserstoffperoxid in die fluoreszierende Form überführt wird und mittels eines Fluoreszenzspektrometers detektiert werden kann ¹²⁷.

Die Bestimmung der PDMS Katheterproben mit immobilisiertem Enzym erfolgte im Arbeitskreis von Prof. Dr. Gübitz an der Technischen Universität Graz bzw. später an der Universität für Bodenkultur Wien, Österreich. Hierzu wurden die PDMS-Proben auf einen Durchmesser mit 0.68 cm gestanzt und in einer 96-well-Mikrotiterplatten mit einer Lösung aus 425 µL einer 0.25 M Natriumphosphat-Puffer (pH 7.4) und 75 µL einer 200 mM Cellobiose-Lösung bei 37 °C und 600 rpm für 2 Stunden inkubiert. Danach wird 197.5 µL aus der Probe in einen schwarzen 96-well-Mikrotiterplatten überführt und 0.5 µL Amplex Red und 2 µL von der Horseradish Peroxidase hinzugefügt. Anschließend wurde die Fluoreszenz mit einem Mikroplatten-Reader *Infinite M200 Pro* der Firma *Tecan* (Schweiz) mit dem Anregungswellenlängenbereich von 530 nm bis 560 nm und der Emissionswellenlänge von 587 nm aufgezeichnet. Die gemessenen Fluoreszenzdaten der Proben wurde unter Verwendung einer Kalibrationsgrade von unterschiedliche verdünnter 30 %iger Wasserstoffperoxid-Stammlösung verglichen. Die Wasserstoffperoxid-Konzentration konnte bis zu einer Nachweisgrenze von 5 nmol/L bestimmt werden ¹²⁸. Bei allen Experimenten handelt es sich um mindestens eine dreifache Bestimmung aus unabhängigen Experimenten.

Aus den erhaltenen Werten werden in dieser Arbeit die Durchschnittswerte und die Standardabweichung aller Daten angegeben.

4.6.3 Bestimmung des Biofoulings

Der Nachweis von Biofilmbildung erfolgte mittels Kristallviolett-Test. Dabei handelt es sich um einen Farbstoff, der seine Farbe durch Bindung an negative geladene extrazelluläre Moleküle und Polysaccharide verändert^{129,130}.

Die Bestimmung der bakteriellen Adhärenz an den PDMS Katheter-Proben wurde im Arbeitskreis von Prof. Dr. Gübitz an der Technischen Universität Graz bzw. später an der Universität für Bodenkultur Wien (Österreich) durchgeführt. Hierzu wurden eine Übernachtskultur an *Staphylococcus aureus* (ATCC 10145) hergestellt und mit Tryptic Soy Broth (TSB) solange verdünnt bis eine optische Dichte von 600 nm ($OD_{600} = 0.1$) eingestellt war. Die Proben, mit 1 cm Durchmesser, wurden in die 24-well-Zellkulturschale (Costar 3337, Corning CellDIND Oberfläche) hineingegeben und mit 1 mL der Bakterien für 24 Stunden bei 37 °C ohne Schütteln inkubiert. Zur Entfernung der nicht-anhaftenden Bakterien wurde die Probe dreimal mit sterilem Phosphat gepufferte Salzlösung und destilliertem Wasser gewaschen. Der an der Oberfläche gebundene Biofilme wurde durch Trocknen bei 60 °C für eine Stunde fixiert. Danach folgte der Färbeschritt mittels einer 0.1 % (w/v in destilliertem Wasser) Kristallviolett-Lösung. Hierzu wurde die Probe für 10 Minuten in die Lösung eingetaucht und danach mit destilliertem Wasser gewaschen. Nach der Trocknung an der Luft wurden die PDMS-Proben in 1 mL 30 % Essigsäure eingetaucht, sodass der Biofilme und die gesamte Biomasse sich ablöste. Mittels Photometer wurde die Menge an Kristallviolett jeder Probe bestimmt. Die Messung erfolgte bei der Absorption bei 595 nm. Von jeder Probe wurde eine dreifach-Bestimmung durchgeführt.

4.6.4 Bestimmung der Zellvitalität

Eine weitere Möglichkeit zur Untersuchung des Biofilms ist die Vitalfluoreszenzuntersuchung mittels des *LIVE/DEAD cell viability* Assay von *Life technologies* (Carlsberg, USA). Dies bieten eine Möglichkeit beim den entstandenen Biofilm zwischen lebenden und toten

Mikroorganismen zu unterscheiden¹³¹. Hierzu verwendet man zwei fluoreszierende Farbstoffe, die unterschiedlich auf die Zellen wirken. Zum einen wird Fluoresceindiacetat von vitalen Zellen verstoffwechselt und lässt diese dann grün fluoreszieren. Mit der Hilfe von Ethidiumbromid, welches sich an spezielle Nukleinsäuren anlagert, und so die avitalen Zellen rot markiert kann. Mit Hilfe eines Konfokaler Laser Scanning Mikroskopie (CLSM) wurden die Proben dann untersucht.

Die Bestimmung der Zellvitalität erfolgte im Arbeitskreis von Prof. Dr. Gübitz an der Technischen Universität Graz bzw. später an der Universität für Bodenkultur Wien, Österreich. Hierfür wurden die PDMS-Proben mit einem Durchmesser von 1 cm in einer 24-well-Titerplatte mit den *Staphylococcus aureus* (ATCC 10145) inkubiert. Das Medium enthielt TSB mit 0.5 % (w/w) Glukose, aktiv wachsenden Bakterien mit einer optische Dichte von 600 nm ($OD_{600} = 0.1$) und zusätzlich eine Endkonzentration an Cellobiose von 25 mM um die Aktivität der Enzyme zu gewährleisten. Die Proben wurden für 3 Stunden bei einer Temperatur von 37 °C ohne Schütteln inkubiert und danach durch dreimaliges Waschen in 0.9 % Natriumchlorid-Lösung von den nicht-anhafteten Zellen gereinigt. Mit Hilfe des *LIVE/DEAD cell viability* Assay wurden die Proben für eine Stunde eingefärbt und mit dem *FluoView 1200 CLSM* System von *Olympus* (USA) visualisiert.

5 Ergebnisse

5.1 Charakterisierung von PDMS

Der zu modifizierende Katheter besteht aus zwei unterschiedlich stark vernetzten PDMS. Zum einen aus dem flexiblen Schlauchmaterial und zum anderen aus dem sehr elastischen Ballonmaterial. Vor der Funktionalisierung erfolgte eine Charakterisierung der PDMS-Materialien.

5.1.1 Quellverhalten

Besonders für die Modifizierung des Katheter-Materials via Adsorption/Entrapment-Prozess ist das Quellverhalten der Materialien von großer Wichtigkeit. Bei Kontakt des PDMS-Netzwerkes mit einem Lösungsmittel, absorbiert das Polymer die Flüssigkeit. Dieser physikalische Vorgang wird als Quellung definiert. Entgegen der Quellung wirkt das Netzwerk des Polymers und es stellt sich mit der Zeit ein Gleichgewicht ein. Die Stärke der Quellung hängt dabei von den Wechselwirkungen zwischen dem Lösungsmittel und dem Polymer-Netzwerk ab. Abbildung 25 zeigt den gravimetrisch bestimmten prozentualen, volumetrischen Zuwachs durch die Solvatisierung der Netzwerke für das Ballon- und das Schlauch-Material mit den unterschiedlichen Lösungsmitteln.

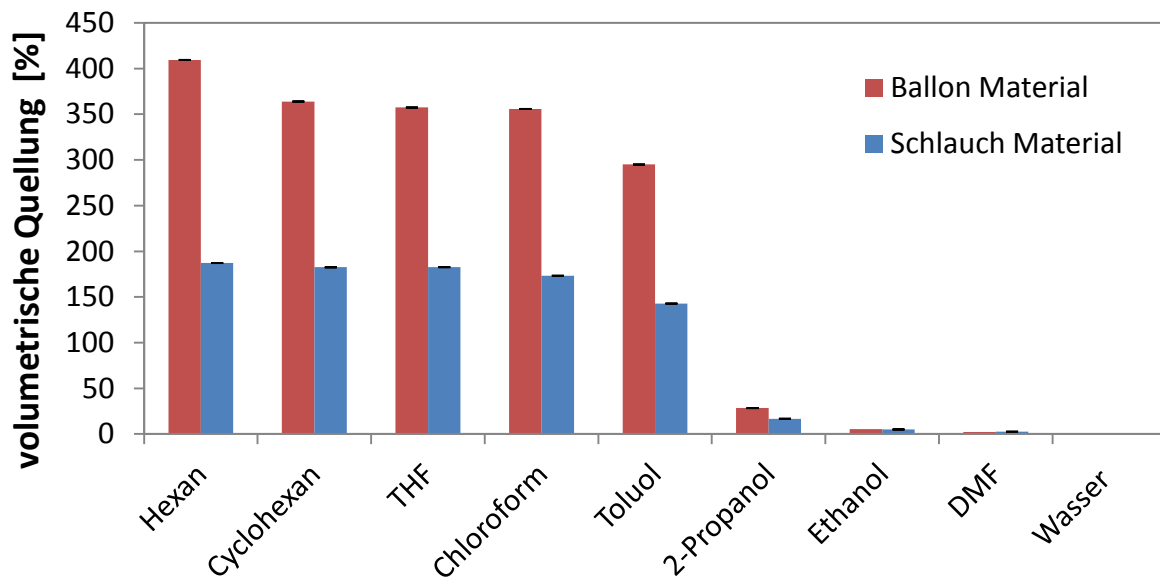


Abbildung 25: Quellungsmessungen, gravimetrisch nach Äquilibration von PDMS in verschiedenen Lösungsmitteln für 24 Stunden bestimmt.

Sowohl das Ballon- als auch das Schlauch-Material zeigen kaum Quellverhalten bei den Lösungsmitteln Wasser, Ethanol, Acetonitril, und DMF. Bei diesen Lösungsmitteln findet somit nahezu keine Solvatisierung des Netzwerkes statt. Die höchste volumetrische Quellung wurde mit dem Lösungsmittel Hexan erreicht, wobei der Quellungsgrad des Ballon-Materials mit 410 % doppelt so groß ist wie beim Schlauch-Material mit 190 %. Im Weiteren konnten gute Quellungseigenschaften beider Materialien mit den Lösungsmitteln THF, Cyclohexan, Chloroform und Toluol erlangt werden. Hier wurde ein deutlich höherer Quellungsgrad des Ballon-Materials im Gegensatz zum Schlauch-Material ermittelt, so wie es sich zuvor auch beim Gebrauch von Hexan zeigte.

5.1.2 Rheologie

Mit Hilfe der Rheologie-Messungen wurde der Einfluss des Lösungsmittels auf die mittlere Maschenweite und den mittleren Vernetzungsgrad mittels Formel 3 und der Formel 4 berechnet. Wie in Abbildung 26 zu erkennen ist, nimmt die Maschenweite beider Materialien mit zunehmender Quellung zu.

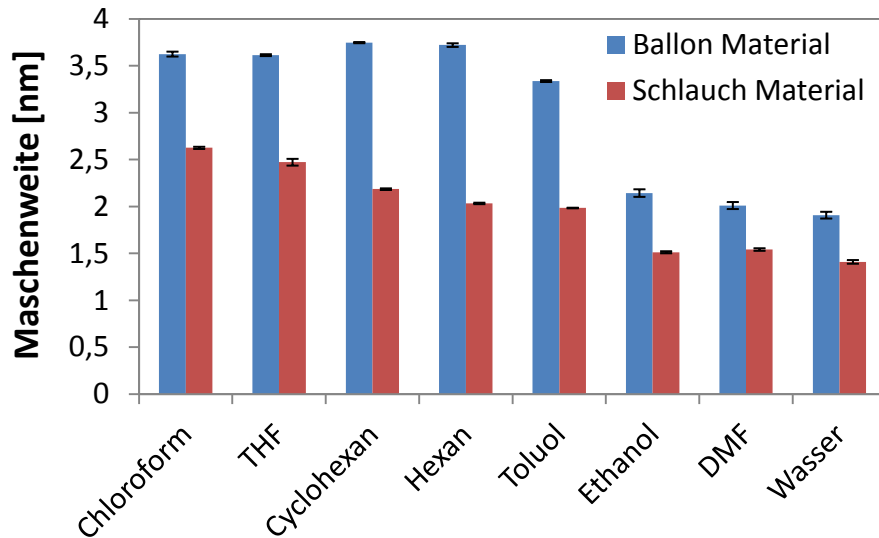


Abbildung 26: Mittlere Maschenweite von in unterschiedlichen Lösungsmittel gequollenden PDMS.

Durch die Solvatisierung erweitert sich die Maschenweite. Im Unterschied zu dem Schlauch-Material, bei dem die mittlere Maschenweite zwischen 1.4 nm bis 2.6 nm liegt, weist das Ballon-Material weit größere mittlere Maschenweiten auf, die zwischen 1.9 nm und 3.6 nm liegen. Die Reihenfolge der Maschenweiten verhält sich bei beiden Materialien gleich.

In Abbildung 27 sind die Ergebnisse der mittleren Vernetzungsdichte dargestellt.

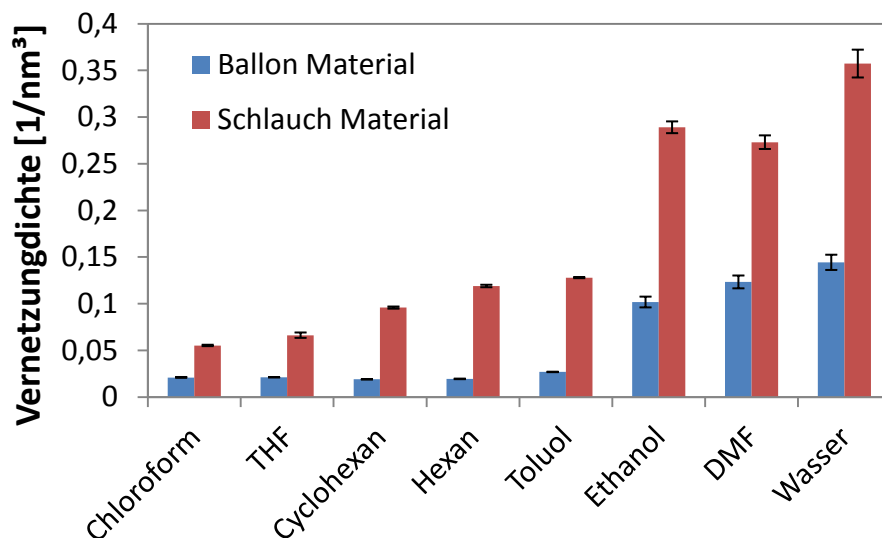


Abbildung 27: Mittlere Vernetzungsdichte von in unterschiedlichen Lösungsmittel gequollenden PDMS.

Im ungequollenen Zustand des PDMS mit den Lösungsmitteln Wasser, DMF und Ethanol wird ersichtlich, dass die Vernetzungsdichte des Schlauch-Materials mehr als doppelt so groß

ist, wie für das Ballon-Material. Je stärker das Material solvatisiert, umso geringer ist die mittlere Vernetzungsdichte. Beim Ballon-Material stellt sich mit der Zeit eine Endvernetzungsichte von 0.02 nm^{-3} ein. Dieses widerspricht sich mit den vermessenen Quellungsdaten, bei denen ein größerer Volumenzuwachs beim Lösungsmittel mit Hexan festgestellt worden ist (vgl. Abbildung 25).

5.1.3 Thermogravimetrische Analyse

Das thermogravimetrische Profil von Schlauch- und Ballon-Material sind in Abbildung 28 dargestellt. Die Thermogramme wurden durch Erhitzen der Probe bei einer Temperatur von 25°C bis 700°C unter Stickstoffatmosphäre aufgenommen.

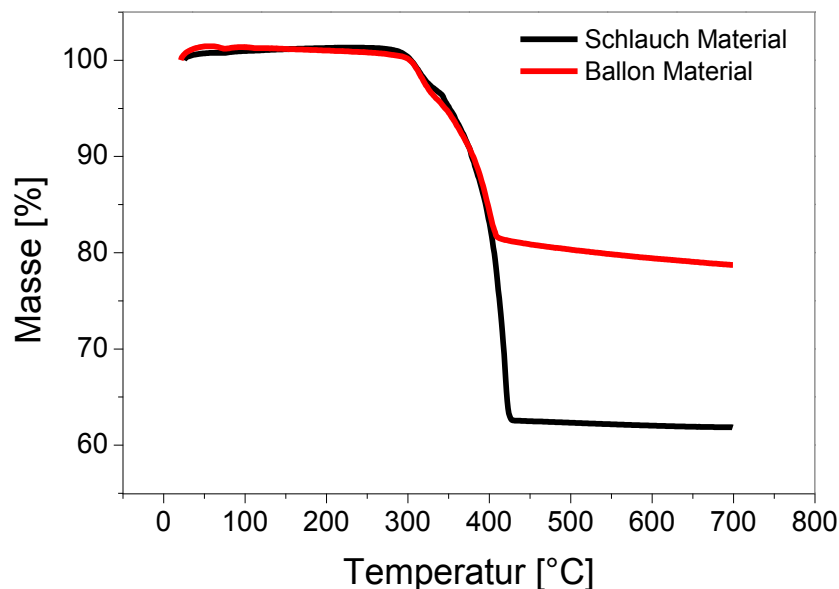


Abbildung 28: Ergebnisse der thermogravimetrische Analyse von Ballon und Schlauch Material.

Die Thermogramme der beiden Materialien zeigen bei 300°C einen Gewichtsverlust. Hier beginnt der Übergangsbereich, der bei beiden Proben bei ca. 425°C wieder endet. In diesem Bereich wird das Polymer abgebaut. Der Verlust der Masse erfolgt entweder durch physikalische Prozesse, wie zum Beispiel Verdampfen, oder durch einen Zerfall der Probe in flüchtige Produkte, wie zum Beispiel Wasser, Kohlenmonoxid, Kohlendioxid oder Kohlenwasserstoffe. Durch die Polymerzersetzung des PDMS entsteht beispielsweise Siliciumdioxid. In der Regel besitzen Silikon-Elastomere weitere Füllstoffe. Beim PDMS

handelt es sich oft um Siliciumdioxid, welches die mechanische Festigkeit des Materials verbessern soll. Siliciumdioxid besitzt einen Schmelzpunkt bei 1713 °C, weshalb es in der Messung zurückbleibt. Der Massenverlust der beiden Materialien fällt sehr unterschiedlich aus. Für das Schlauch-Material liegt dieser bei 39.4 %. Das Ballon-Material hingegen zeigt mit 21.4 % einen weitaus kleineren Gewichtsverlust.

5.2 Polymersynthese

5.2.1 Herstellung von PDMS-PDMAEMA

Für die Oberflächenfunktionalisierung mittels Adsorption/Entrapment-Prozess wurde ein amphiphiles Block-Copolymer aus einem hydrophoben Ankerblock, der mit dem Silikonmaterial des Katheters kompatibel ist, und einem Funktionsblock synthetisiert. Der Funktionsblock sollte Antibiofouling-Eigenschaften aufweisen, weshalb hierfür das Polyzwitterion Poly-Dimethyl(methacryloxyloxyethyl)ammoniumpropansulfonat (PSPE) gewählt wurde. Als Ankerblock wurde ein kommerziell erhältliches Polydimethylsiloxan verwendet.

Das Block-Copolymer wurde in drei Reaktionsschritten hergestellt. Beim ersten Schritt handelt es sich um eine Veresterung des Monohydroxyl-terminierten Polydimethylsiloxan (PDMS-OH) mit einer Chlorcarbonsäure zum Makroinitiator. Die Reinheit der Veresterung ließ sich gut über die Verschiebung der aromatischen Peaks der Chlorcarbonsäure bestimmen. Die Synthese des Polyzwitterions am Ankerblock wurde aufgrund der schlechten Löslichkeit des amphiphilen Endproduktes in zwei Syntheseschritte aufgeteilt. Aus diesem Grund wurde zunächst an dem Makroinitiator PDMS-Cl das Monomer 2-Dimethylaminoethylmethacrylate (DMAEMA) polymerisiert. Somit konnten mit Hilfe der ATRP maßgeschneiderte Block-Copolymere PDMS-*b*-PDMAEMA, wie in Kapitel 4.2.1.2 beschrieben, dargestellt werden. Die Polymerisation des Monomers DMAEMA nimmt in dieser Arbeit eine wichtige Stelle ein, da diese nicht nur für die Herstellung des maßgeschneiderten Block-Copolymers von Bedeutung ist, sondern auch der Grundbaustein für die kationischen Polyelektrolyte darstellt. Die ATRP mit DMAEMA als Monomer knüpft an die Arbeit von Berndt an¹³². Die Reaktionsbedingungen wurden auf den Makroinitiator PDMS-Cl angepasst.

Bei einer konstanten Anzahl an wachsenden Radikalen sollte sich ein linearer Zusammenhang zwischen Zeit und logarithmierten Umsatz ergeben, sodass die Polymerisation sich in Bezug auf DMAEMA nach der Kinetik erster Ordnung verhält. Der aufgenommene Umsatz-Zeit-Verlauf der verbesserten Polymerisation wurde in Abbildung 29 dargestellt.

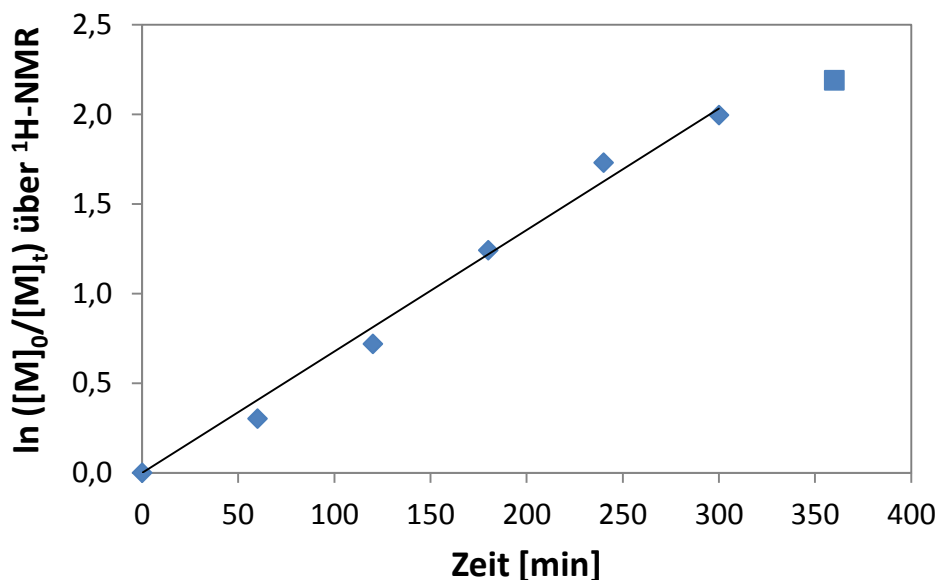


Abbildung 29: Zeit-Umsatz-Kurve erster Ordnung für die ATRP von DMAEMA mit PDMS-Cl als Makroinitiator mit Trendlinie, welche den Zeitraum der ersten 5 Stunden umfasst.

Der Vergleich der Umsatz-Zeit-Kurve mit der Trendlinie zeigt eine schnelle Initiierung und das Fehlen von Abbruchreaktionen. Mit einem Bestimmtheitsgrad von 0.989 lässt sich ein langer, nahezu linearer Anstieg des logarithmierten Umsatzes erkennen. Die gemessenen Punkte liegen in der Anfangsphase etwas unterhalb der Trendlinie, was für eine langsame Initiierung spricht. Nach fünf Stunden nimmt die Polymerisation ab und es machen sich Abbruchreaktionen aktiver Ketten bemerkbar. An diesem Punkt ist ein gleichmäßiges Wachstum der Ketten kinetisch erschwert. Auf Basis dieser ATRP-Bedingungen erfolgte die Synthese von drei Block-Copolymeren PDMS-*b*-PDMAEMA mit unterschiedlichem Anteil an polymerisiertem DMAEMA. Hierfür wurde die Stoffmenge von DMAEMA variiert. Mittels $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie wurde der Umsatz bestimmt. Hierbei wurde von der Annahme ausgegangen, dass ein gleichmäßiges Kettenwachstum vorliegt, sodass die molare Masse und die Anzahl der Wiederholungseinheiten des Monomers aus dem Umsatz kalkuliert

werden kann. Tabelle 3 zeigt eine gute Übereinstimmung der gewünschten und der mittels ^1H -NMR bestimmten Kettenlängen an DMAEMA.

Tabelle 3: Ergebnisse der ^1H -NMR-Spektroskopie von der ATRP von DMAEMA unter der Verwendung von Toluol als Lösungsmittel und einem Verhältnis 1:1 von CuCl:HMTETA bei 55°C für 5 Stunden.

Polymer	$c_{\text{(Initiator)}}$ [mmol]	$c_{\text{(Monomer)}}$ [mmol]	Umsatz [%]	Anzahl an Wiederholungseinheiten (DMAEMA)	M_{kalk} [kDa]	DMAEMA Anteil [%]
PDMS-<i>b</i>- PDMAEMA₂₀	2	52	79	20.5	4.3	75
PDMS-<i>b</i>- PDMAEMA₃₀	2	84	69	27.7	5.7	80
PDMS-<i>b</i>- PDMAEMA₄₀	2	116	72	42.0	7.8	86

Aus den Daten lässt sich entnehmen, dass die Polymere sich gut durch die ATRP einstellen ließen. Weitere Analysen erfolgten mittels der GPC, dessen Ergebnisse aus Tabelle 4 entnommen werden können.

Tabelle 4: Ergebnisse der ATRP von DMAEMA unter der Verwendung von Toluol als Lösungsmittel und einem Verhältnis 1:1 von CuCl:HMTETA bei 55°C für 5 Stunden.

Polymer	$C_{\text{(Initiator)}}$ [mmol]	$C_{\text{(Monomer)}}$ [mmol]	$M_{\text{kalk}} (^1\text{HNMR})$ [kDa]	M_n (GPC) [kDa]	PDI (GPC)
PDMS-<i>b</i>-PDMAEMA₂₀	2	52	4.3	26.5	1.43
PDMS-<i>b</i>-PDMAEMA₃₀	2	84	5.7	28.7	1.43
PDMS-<i>b</i>-PDMAEMA₄₀	2	116	7.8	14.0	1.41

Im Gegensatz zu den mit ^1H -NMR-kalkulierten molaren Massen fallen die mittels GPC gemessenen molaren Massen deutlich größer aus. Ebenfalls weisen die Ergebnisse der GPC keine Korrelation zwischen der eingesetzten Stoffmenge des Monomers DMAEMA und der molaren Masse auf. Die Probe mit der größten eingesetzten Stoffmenge misst die kleinste molare Masse. Die gemessenen Polydispersitäten (PDI) deuten jedoch auf ein kontrolliertes Kettenwachstum hin. Sie sind etwas größer als für eine perfekt kontrollierte ATRP, liegen aber noch im Bereich der lebenden Polymerisation. In einem weiteren Schritt erfolgt die Sulfobetainisierung, welche in Kapitel 5.2.3 beschrieben wird.

5.2.2 Bestimmung der kritischen Mizellbildungskonzentration des PDMS-*b*-PDMAEMA in DMF

Aufgrund des Widerspruchs der mittels GPC gemessenen molaren Massen mit dem Vorhergesagten, wurde das synthetisierte Polymer PDMS-*b*-PDMAEMA im Lösungsmittel DMF untersucht. Mit der Analyse der kritischen Mizellbildungskonzentration (CMC) unter Einsatz der Pyren-Methode wurde versucht, die Konzentration eines amphiphilen Polymers, bei dem sich Mizellen bilden, zu messen. Obwohl DMF polar ist, handelt es sich nicht um ein übliches Lösungsmittel für die Bestimmung des CMCs. Für die Mizellbildung in

Lösungsmitteln spielen kombinierte Effekte aus der Dielektrizitätskonstante des Mediums, den Wasserstoffbrückenbindungen und dem Solvationsvermögen des Lösungsmittels eine wichtige Rolle¹³³. Tatsächlich wurde nur bei einer beschränkten Anzahl an amphiphilen Polymeren eine CMC in DMF beobachtet¹³⁴. In Abbildung 30 sind die Peakintensitätsverhältnisse aus der Messung mittels Fluoreszenzspektrometers von 373 nm / 393 nm gegenüber der Polymerkonzentration in DMF aufgetragen.

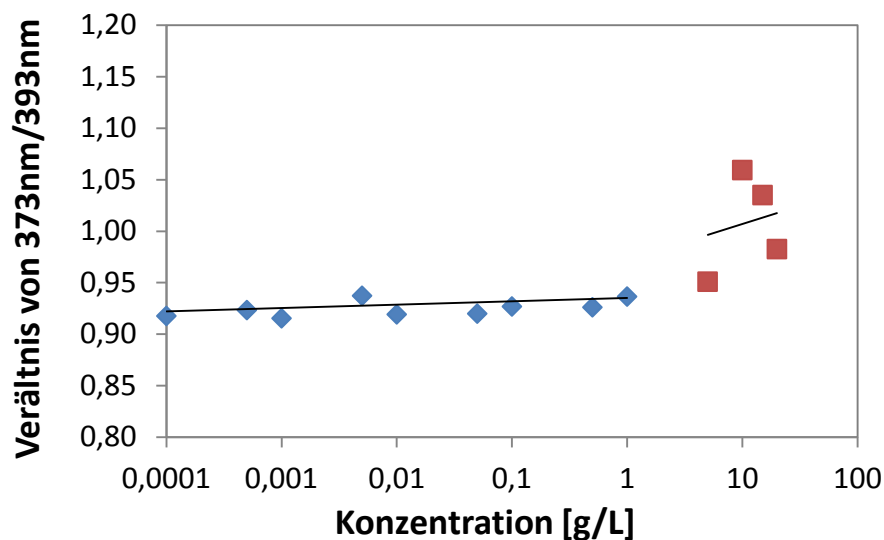


Abbildung 30: Bestimmung der kritischen Mizellen-Konzentration für PDMS-co-PDMAEMA₃₀ in DMF.

Bis zu einer Polymerkonzentration von 1 g/L bleibt das Intensitätsverhältnis der beiden Peaks eindeutig konstant bei ungefähr 0.92. Ein leichter Anstieg des Intensitätsverhältnisses ist bei der Probe mit einer Konzentration von 5 g/L zu erkennen, welcher bei den höheren Konzentrationen weiter zunimmt. Jedoch konnte keine Ausgleichsgrade durch die Ergebnisse der Konzentrationen höher als 5 g/L gezogen werden, sodass kein Schnittpunkt festgelegt werden konnte. Deshalb konnte kein genauere Wert für die CMC erhalten werden.

5.2.3 Sulfobetainisierung zum PDMS-*b*-PSPE

Im nächsten Schritt erfolgte die vollständige Betainisierung des PDMAEMA-Anteils. Da sich das Endprodukt PDMS-*b*-PSPE schlecht in den üblichen Lösungsmitteln für NMR und GPC lösen lies, erfolgte die Charakterisierung mittels Elementaranalyse und IR-Spektroskopie. Tabelle 5 sind die Ergebnisse der Elementaranalyse im Vergleich zu den theoretischen

Werten aufgelistet. Für die theoretischen Elementaranteile wurde kalkulierte molare Masse mittels $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie von PDMS-*b*-PDMAEMA verwendet.

Tabelle 5: Ergebnisse der Elementar Analyse von den Polymeren PDMS-*b*-PSPE und der daraus berechneten molaren Massen im Vergleich zu kalkulierten molaren Massen der $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie.

		PDMS- <i>b</i> -PSPE ₂₀		PDMS- <i>b</i> -PSPE ₃₀		PDMS- <i>b</i> -PSPE ₄₀	
Ausgangspolymer		PDMS- <i>b</i> -PDMAEMA ₂₀		PDMS- <i>b</i> -PDMAEMA ₃₀		PDMS- <i>b</i> -PDMAEMA ₄₀	
¹ H-NMR	SPE Anteil [%]	85		89		92	
	M _{kalk} [kDa]	6.9		9.1		12.3	
EA	Element	Theo.	Det.	Theo.	Det.	Theo.	Det.
	C [%]	45.9	45.6	46.6	45.2	46.8	41.0
	H [%]	8.5	8.1	7.6	7.8	7.6	7.5
	N [%]	4.1	4.6	4.4	4.5	4.6	4.3
	S [%]	9.4	8.7	10.0	10.0	10.5	9.8
	SPE Anteil [%]	82		87		90	
	M _{kalk} [kDa]	6.2		8.8		10.9	
	Verhältnis S/N [%]	100.3		97.2		99.7	

Die erhaltenen Werte des prozentualen Anteils der einzelnen Elemente bewegen sich in einem ähnlichen Rahmen wie die theoretisch kalkulierten Werte für eine vollständige Quaternierung. Mit Hilfe des prozentualen Anteils der Elemente der GPC-Messung ließ sich ebenfalls die molare Masse ermitteln. Diese fällt niedriger als bei den kalkulierten molaren Massen der $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie aus. Jedoch stimmt die Tendenz der Reihenfolge der unterschiedlich langen Polymere überein. Aus dem Verhältnis zwischen den prozentualen Anteilen von Schwefel und Stickstoff geht hervor, dass alle Polymere 100 % betainisiert wurden. Das mittlere Polymer PDMS-*b*-PSPE₃₀ weicht mit 97 % als einziges etwas ab, jedoch kann man auch hier von einer ausreichenden Umsetzung zum Zwitterion ausgehen.

Ein weiteres Indiz für eine gute Umsetzung zum Sulfobetain zeigten die IR-Spektroskopien. Aufgrund der Umwandlung der Amin-Gruppe in eine Ammonium-Gruppe verschwinden die Absorptionen der Wellenzahl $2769\ 2820\text{ cm}^{-1}$ vollständig. Zusätzlich treten bei 1060 cm^{-1} und 1175 cm^{-1} Peaks für das Sulfonat auf.

In weiteren Tests wurde versucht, die kritische Mizellbildungskonzentration (CMC) der Polymere in 1 M Salzsäure zu ermitteln. Jedoch konnte keine CMC zwischen einer Konzentration von 0.0001 g/L und 5 g/L gefunden werden (siehe Anhang: Abbildung 82).

5.2.4 ATRP von PDMAEMA

Für die Beschichtung mittels *Layer-by-Layer*-Prozess wurde das Polymer PDMAEMA als Grundbaustein verwendet. Für eine bessere Beeinflussung der Polymergröße erfolgte die Synthese mit Hilfe einer lebenden Polymerisation. Ausgangspunkt waren hierfür zunächst die in der Arbeit von Berndt detailliert untersuchten ATRP-Bedingungen¹³², welche in weiteren Schritten leicht abgewandelt wurden. Mit Hilfe der ^1H -NMR-Spektroskopie wurde der Umsatz bestimmt und gegen die Zeit aufgetragen.

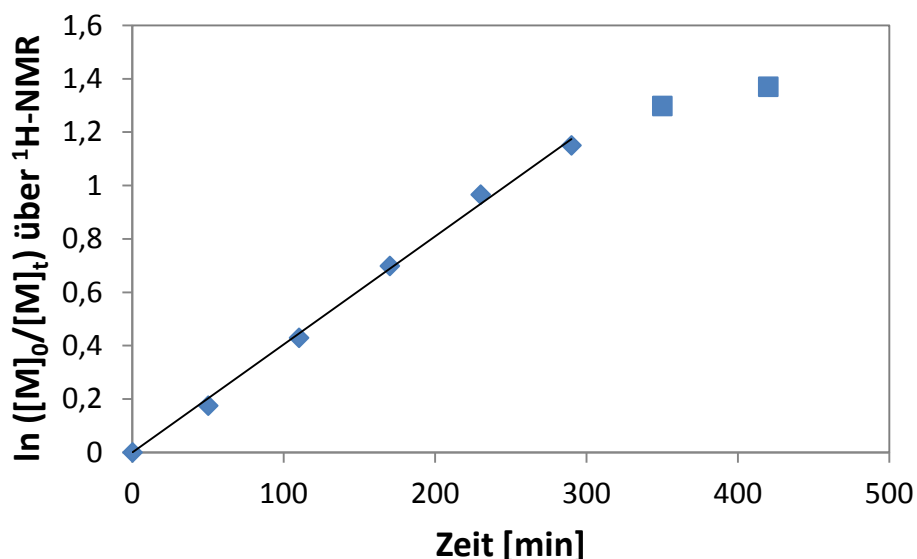


Abbildung 31: Umsatz-Zeit-Kurve erster Ordnung für die ATRP von DMAEMA mit Ethyl- α -Bromoisobutyrat als Initiator mit Trendlinie, welche den Zeitraum der ersten 5 Stunden umfasst.

Abbildung 31 zeigt den Umsatz-Zeit-Verlauf der Kinetik erster Ordnung der ATRP von DMAEMA, welcher einen linearen Anstieg der Polymerisation aufweist. Dies spricht für eine schnell initiierte Polymerisation mit wenigen Abbruchreaktionen. Der Bestimmtheitsgrad ist hierbei mit 0.997 relativ exakt. Nach fünf Stunden fällt die Kurve langsam ab (in der Abbildung mit blauen Rechtecken gekennzeichnet). Hier kommt die Polymerisation langsam zum Stillstand, sodass es zu keiner großen Veränderung des Umsatzes führt. Mit Hilfe der ATRP erfolgte die Synthese des Grundbausteins für den kationischen Polyelektrolyt mit einer molaren Massen von ungefähr 14.5 kDa. Die molare Masse wurde zum einen mittels GPC und zum anderen über die ^1H -NMR-Spektroskopie ermittelt. Die Bestimmung mittels ^1H -NMR-Spektroskopie erfolgte durch den Umsatz der Monomere unter der Annahme, dass jedes Initiator-molekül an der Polymerisationsreaktion teilnimmt. Die Ergebnisse der PDMAEMA, welche als Grundbausteine für die unterschiedlichen Polyelektrolyten dienen, sind in Tabelle 6 aufgelistet. Dabei handelt es sich um die gleiche Reaktion bei gleichen Reaktionsbedingungen.

Tabelle 6: Ergebnisse der ^1H -NMR-Spektroskopie und GPC für die Synthese der Polymeren PDMAEMA.

Nummer	Polymer für:	$C_{(\text{Initiator})}$ [mmol]	$C_{(\text{Monomer})}$ [mmol]	Umsatz [%]	M_{kalk} (^1H NMR) [kDa]	M_n (GPC) [kDa]	PDI (GPC)
1	PTMAEMA-co- PSPE 0%	1	140	67	14.9	18.8	1.26
2	PTMAEMA-co- PSPE 25%	1	140	54	12.1	16.3	1.31
3	PTMAEMA-co- PSPE 50%	1	140	68	15.3	15.7	1.22
4	PTMAEMA-co- PSPE Octyl	1	140	70	15.6	16.3	1.55

Mit Hilfe der ATRP konnten reproduzierbare Polymergrößen erhalten werden. Der Umsatz, bestimmt aus der Reaktionslösung mittels ^1H NMR-Spektroskopie, betrug ungefähr 68 % mit

Ausnahme der zweiten PDMAEMA-Synthese. Die molaren Massen der GPC-Analyse lagen recht nah bei einander und fielen im Vergleich zu den mittels $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie kalkulierten molaren Massen etwas höher aus. Die PDI-Werte waren bis auf Ausnahme der vierten PDMAEMA-Synthese alle unter 1.5, sodass von einer lebenden Polymerisation ausgegangen werden kann.

5.2.4.1 Sulfobetainisierung von PDMAEMA

Mittels der Sulfobetainisierung wurde das PDMAEMA zum Zwitterion umgewandelt. Zur Herstellung unterschiedlicher Polymere, die hinsichtlich ihres Verhältnisses von Zwitterionen und kationischen Polymeren variieren, wurde die Menge des Reagenz 1,3-Propansulton an die gewünschte zwitterionische Fraktion angepasst. Es wurden die Verhältnisse von 0 %, 25 % und 50 % an Zwitterionen gewählt. Der Nachweis erfolgte, wie in Kapitel 4.3.1 und 4.3.4 beschrieben, über die $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie und Elementaranalyse. Der Vergleich zwischen den theoretischen und den mittels $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie und Elementaranalyse kalkulierten zwitterionischen Anteile der jeweiligen Polymere befindet sich in Tabelle 7.

Tabelle 7: Vergleich zwischen theoretisch und mit $^1\text{H-NMR}$ und Elementar Analyse kalkuliertem bestimmten Anteil an Zwitterionen.

Polymer für:	Theoretische Sulfonierungsgrad	$^1\text{H-NMR}$ kalkulierter Sulfonierungsanteil	EA kalkulierter Sulfonierungsanteil
PTMAEMA-co-PSPE 0%	0 %	0 %	0 %
PTMAEMA-co-PSPE 25%	25 %	23.7 %	23.3 %
PTMAEMA-co-PSPE 50%	50 %	49.8 %	48.4 %
PTMAEMA-co-PSPE Octyl	25 %	26.7 %	25.7 %

Aus den ermittelten Werten wird ersichtlich, dass sowohl die berechneten Werte aus der $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie sowie aus der Elementaranalyse mit den gewünschten zwitterionischen Anteilen im Polymer gut übereinstimmen.

5.2.5 Quarternierung von PDMAEMA

Wie im Abschnitt 4.2.2.3 beschrieben, erfolgte die Quarternierung der restlichen Amin-Gruppen hauptsächlich mit Methyljodid. Die Vollständigkeit des Quarternierungsgrades konnte indirekt über die Abwesenheit der Methylgruppen in chemischer Umgebung eines tertiären Stickstoffes bei der Aufnahme eines 500 MHz ^1H -NMR Spektrums bewiesen werden. Diese Aussage wird ebenfalls durch das IR-Spektrum in **Abbildung 32** unterstützt. Durch die Abwesenheit der Absorptionen bei den Wellenzahlen 2820 cm^{-1} sowie bei 2760 cm^{-1} wird die Umwandlung der Amin- in eine Ammonium-Gruppe belegt.

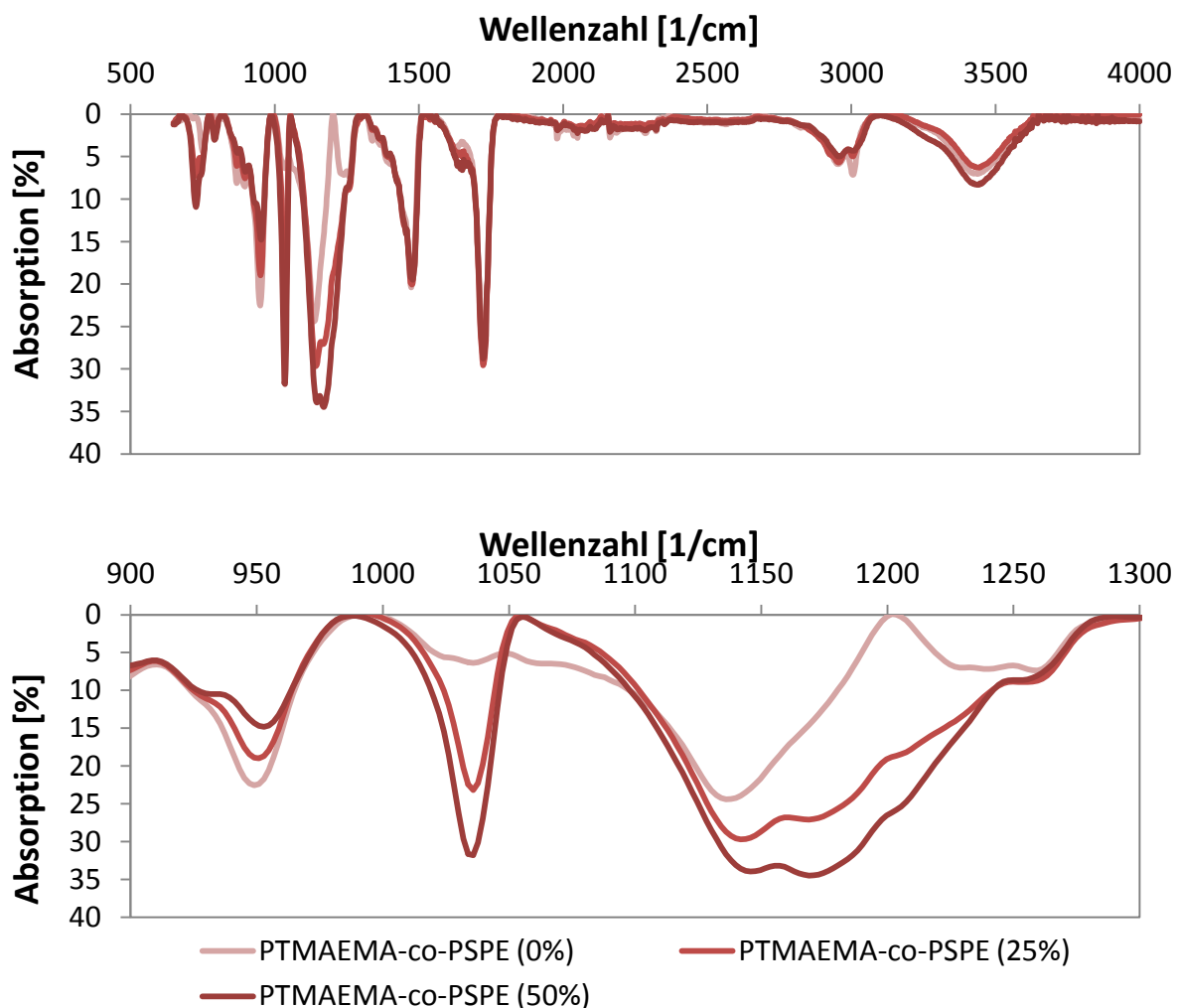


Abbildung 32: Infrarotspektren unterschiedlicher PTMAEMA-co-PSPE. Die obere Abbildung zeigt das IR-Spektrum über den Wellenzahlbereich von $500 - 4000\text{ cm}^{-1}$ an. Die untere ist eine Vergrößerung im Bereich zwischen $900 - 1300\text{ cm}^{-1}$.

Weiterhin liefern die aufgenommenen IR-Spektren einen weiteren Beweis für die Betainisierung. Hierzu wurden die IR-Spektren der drei Polymere mit variiertem zwitterionischen Anteil übereinander gelegt und die Intensität an die Ester-Bande (1720 cm^{-1}) angeglichen. In dem Bereich zwischen 900 cm^{-1} und 1300 cm^{-1} , welcher vergrößert in Abbildung 32 dargestellt ist, wird die Abstufung des zwitterionischen Anteils deutlich. Während die Peaks bei 1035 cm^{-1} und 1170 cm^{-1} mit entsprechendem Anteil an Zwitterionen intensiver werden, nimmt das Signal bei 950 cm^{-1} ab. Der letztgenannte Peak stellt die C-N-Valenzschwingungen dar¹³⁵, welche bei höherem zwitterionischen Anteil und dem damit verbundenen geringeren Anteil an methylierten Ammonium-Gruppen sinkt. Die Signale 1035 cm^{-1} und 1170 cm^{-1} sind der Sulfonat-Gruppe des Zwitterions zuzuordnen. Das Signal bei 1035 cm^{-1} ist bei dem Polymer PTMAEMA, welches keine Zwitterionen beinhaltet, nicht vorhanden und tritt erst mit zunehmendem zwitterionischen Anteil auf. Das gleiche gilt auch für 1170 cm^{-1} , jedoch wird dieser vom Peak der C-O-Valenzschwingung bei der Wellenzahl von 1145 cm^{-1} teilweise überlagert.

Die Oktylierung des Polymers mit 25% Zwitterionen konnte, wie in Kapitel 4.3.1 beschrieben, mit einem Quarternierungsgrad von 26.2 % ermittelt werden.

5.3 Beschichtungsverfahren Adsorption/Entrapment

Das Beschichtungsverfahren Adsorption/Entrapment wurde an das Katheter-Material angepasst. Aufgrund der schlechten Löslichkeit des amphiphilen Polymers PTMAEMA-*b*-PSPE in PDMS quellenden Lösungsmitteln, konnte die Adsorption/Entrapment-Methode nach Guo nicht verwendet werden^{82,83}. Hierbei wurden Polypropylen-Membranen zur Funktionalisierung in einer 25 g/L Pluronic-Lösung mit 1,2-Dichloroethan für 20 Stunden bei Raumtemperatur eingelegt und anschließend mit Wasser entquollen. Berndt verstärkte die Adsorptionstendenz des hydrophoben Fragments an die hydrophobe Oberfläche durch eine hydrophile Umgebung. Hierzu wurde das Quellungsreagenz nicht nur mit dem amphiphilen Polymer vermischt, sondern auch mit einem Nicht-Lösungsmittel Wasser oder 0.5 mol/L bzw. 0.025 mol/L NaCl-Lösung versetzt¹³². Durch die effizientere Adsorption konnte die benötigte Polymerkonzentration deutlich herabgesenkt werden. Der in ihrer Arbeit verwendete Polysulfon-Film wurde für 18 Stunden in die Funktionalisierungsreagenz aus 25 %

Dimethylacetamid und 75 % Wasser mit einer Polymerkonzentration von 1 g/L eingelagert und danach in Wasser entquollen und gründlich gewaschen. Das amphiphile Polymer PTMAEMA-*b*-PSPE ist in Wasser unlöslich, weshalb 1 molare Salzsäure verwendet wurde. Da Salzsäure einen hydrolysierenden Effekt auf das PDMS-Material haben kann, sollte die Einlagerungszeit möglichst gering ausfallen. Durch das Einlagern des PDMS-Materials bei 25 % THF und 75 % 1 molarer Salzsäure für 18 Stunden wurde häufig ein veränderter Kontaktwinkel des Basismaterials vermessen. Dies wies auf eine mögliche Hydrolyse des PDMS hin. Um die Zeit zu verkürzen, wurde das Modifizierungs-Protokoll, wie in Abbildung 33 dargestellt, verändert. Hierbei werden der Quellungsprozess und der Adsorption/Entrapment-Prozess getrennt. Im ersten Schritt findet die Quellung des Materials statt und erst im zweiten Schritt tritt das aufgequollene Material in Kontakt mit dem amphiphilen Polymer. In diesem Schritt erfolgt der Adsorption/Entrapment-Prozess.

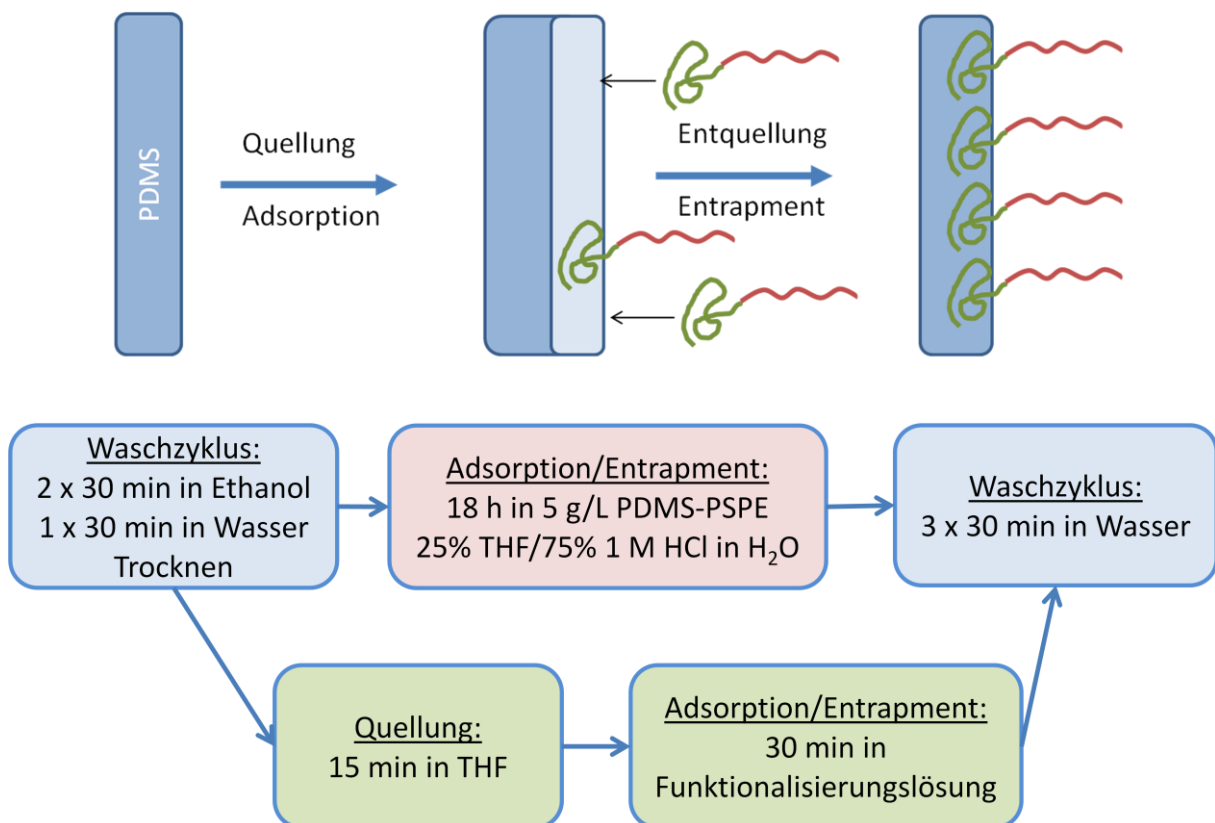


Abbildung 33: Veränderung des Modifizierungs-Protokolls. Rot unterlegt: Durchführung nach Berndt et al.⁸¹.

Grün unterlegt: das angepasste Protokoll, wobei die Quellung und der Adsorption/Entrapment Prozess getrennt ablaufen.

Durch das Einlagern des PDMS in reinem THF für 15 Minuten konnte ein weitaus höherer Quellungsgrad erreicht werden, als in dem THF/Wasser-Gemisch. Danach wurde das gequollene PDMS-Material in die Funktionalisierungslösung mit einer Konzentration von 2.5 g/L in 1 molarer Salzsäure für 30 Minuten eingelagert. Aufgrund der guten Mischbarkeit des Lösungsmittels THF mit der Funktionalisierungslösung, kann von einer vollständigen Entquellung des PDMS-Materials innerhalb dieser Zeit ausgegangen werden. In dieser Zeit erfolgte die Adsorption des Anker-Blockes. Durch das vollständige Entquellen des PDMS-Materials konnte das hydrophobe Fragment eingeschlossen werden. Danach folgten die Waschschrte.

5.3.1 Zeta-Potential Messungen

Nach der PDMS-Funktionalisierung via Adsorption/Entrapment-Prozess wurde die Oberflächenladung über die Strömungspotential-Messung charakterisiert. Die Ergebnisse sind in Abbildung 34 durch die Auftragung des Zeta-Potentials gegen den pH-Wert dargestellt.

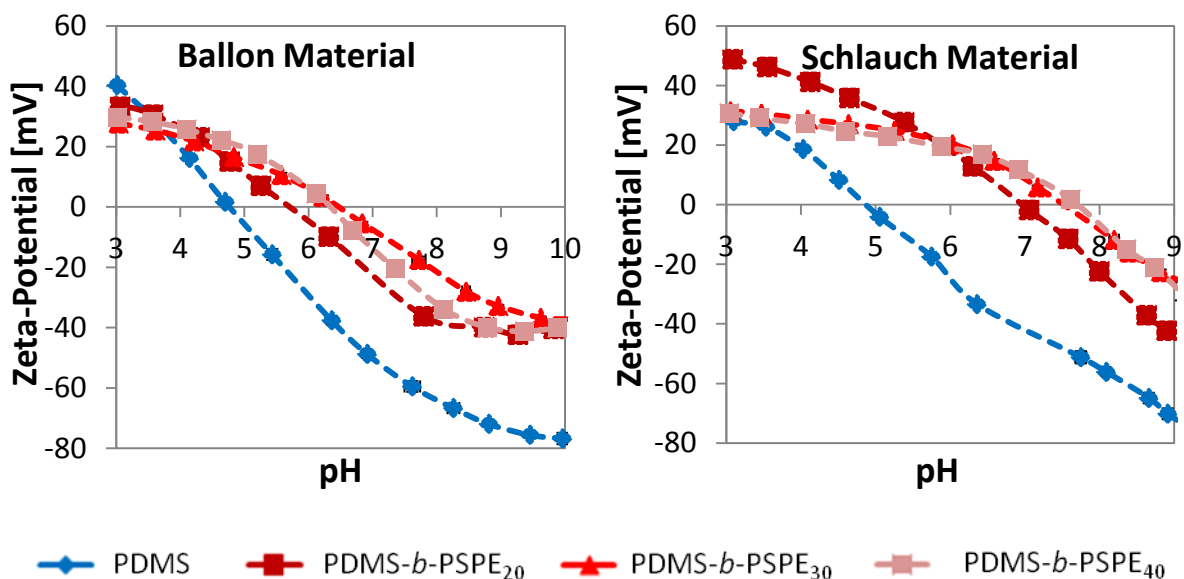


Abbildung 34: Abhängigkeit des Zeta-Potentials vom pH-Wert für Ballon- und Schlauch-Material funktionalisiert mit unterschiedlich langen Polyzwitterionen Anteilen.

Die erhaltenen Werte für das Basismaterial für Ballon- und Schlauch-Material des Katheters verhalten sich sehr ähnlich. Beide weisen einen isoelektrischen Punkt bei ungefähr 4.8 auf. Die modifizierten PDMS-Proben besitzen im Vergleich zu dem Basismaterial einen leicht erhöhten isoelektrischen Punkt. Dieser liegt für das Ballon-Material bei ungefähr 6.2 und für das Schlauch-Material bei ungefähr 7.4 und ist somit näher am Neutralbereich. Eine Reduzierung der Oberflächenladung ist besonders im alkalischen Bereich bei beiden Proben zu erkennen, da hier die Zeta-Potentialwerte leicht erhöht sind.

Bei allen Block-Copolymeren ist eine deutliche Veränderung der Oberflächeneigenschaften zu registrieren, jedoch ist kein wirklicher Einfluss der Größe des zwitterionischen Fragments bei dem Verlauf in pH-Abhängigkeit zu erkennen. Lediglich der isoelektrische Punkt zeigt einen Trend der Abhängigkeit in Bezug auf die Anzahl der Wiederholungseinheiten an Zwitterionen. Je mehr Zwitterionen im Block-Copolymer eingebaut waren, desto größer war die Verschiebung des isoelektrischen Punktes. Eine Verschiebung der Kurve in Richtung des Basismaterials ist im Vergleich zu den anderen verwendeten Polymeren besonders bei der Wiederholungseinheit von 20 Zwitterionen zu erkennen. Die Kurven der Block-Copolymere mit 30 und 40 Wiederholungseinheiten fallen dagegen recht einheitlich aus.

Weiterhin weisen die Funktionalisierung des PDMS-Kathetermaterials eine gewisse Stabilität auf, da die Oberfläche während der 4-stündigen Messung des Zeta-Potentials durchgehend einer tangentialen Strömung ausgesetzt wurden und deren Scherkräfte standhielten.

5.3.2 Kontaktwinkelmessungen

Durch die Funktionalisierung des PDMS-Kathetermaterials via Adsorption/Entrapment-Prozess sollte eine hydrophilere und langzeitstabile Oberfläche geschaffen werden. Zur Charakterisierung der Hydrophilie der Oberfläche wurde die Methode der „*captive bubble*“ Kontaktwinkelmessung verwendet, da der Katheter in seiner Verwendung auch in einem feuchten Milieu vorliegt. Die Kontaktwinkel wurden direkt nach der Funktionalisierung und in Abhängigkeit von Zeit und Lagerungsumgebung vermessen. In der nachfolgenden Abbildung 35 sind die Ergebnisse der Kontaktwinkelmessungen für die mit den unterschiedlichen Polymerlängen von PDMS-*b*-PSPE modifizierten PDMS-Materialien im

Vergleich zu den unmodifizierten Proben dargestellt. Für die Langzeit-Stabilität wurden die Proben außerdem über einen Zeitraum von 10 Tagen in 10 mM Azid-Lösung gelagert und regelmäßig Überprüfungen des Kontaktwinkels durchgeführt.

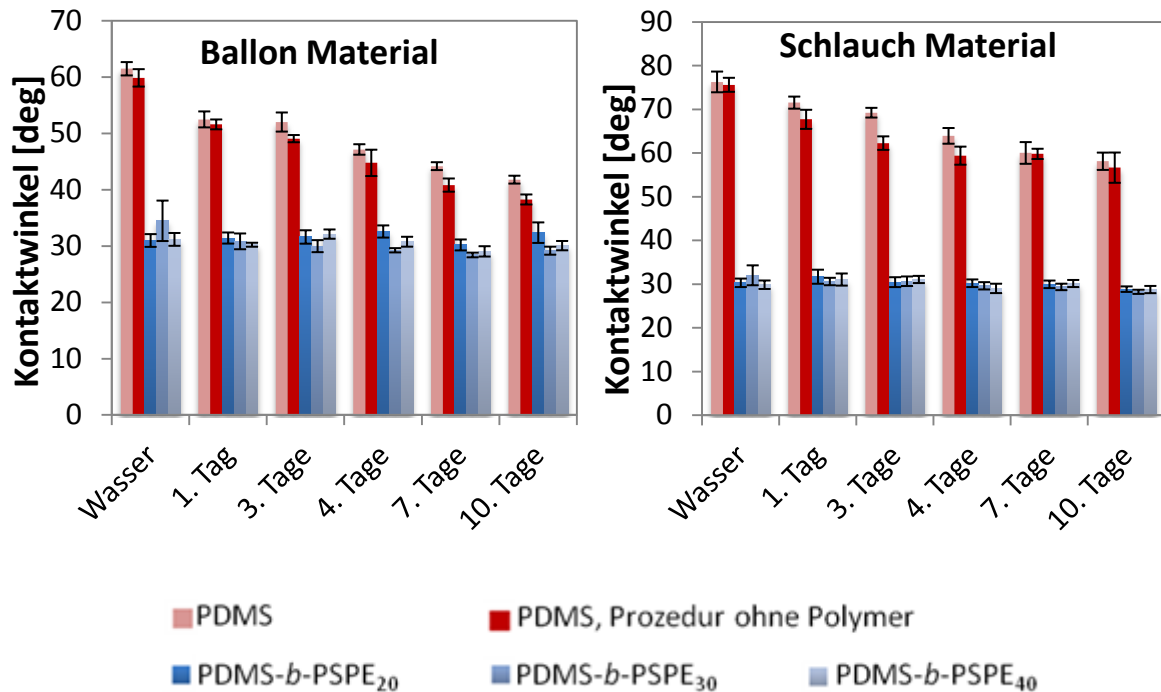


Abbildung 35: Kontaktwinkelbestimmung von PDMS, PDMS modifiziert mit den unterschiedlich langen PDMS-*b*-PSPE Polymeren über einen längeren Zeitraum in 10 mM Azid-Lösung.

Die Blindprobe in Abbildung 35, welche der gleichen Prozedur nur ohne Polymer in der Funktionalisierungslösung ausgesetzt ist wie die modifizierten Proben, wird zusätzlich mit einer unbehandelten Probe verglichen, um mögliche unerwünschte Nebenreaktionen auszuschließen. Bei beiden Materialien liegen die Kontaktwinkel der unterschiedlichen Blindproben über den gesamten Zeitraum nah beieinander. Das Verfahren mit THF und 1 molarer Salzsäure scheint das Material nicht zu beeinflussen. Bei beiden Blindproben fällt mit zunehmender Zeit der Lagerung in Azid-Lösung der Kontaktwinkel ab. Die modifizierten Proben weisen dagegen einen konstanten Kontaktwinkel von 30 ° über den gesamten Zeitraum von 10 Tagen auf. Somit wurde durch die Funktionalisierung im Vergleich zu den Blindwerten eine signifikant hydrophilere Oberfläche erreicht. Dabei scheint, dass sowohl die unterschiedlichen Polymerlängen, als auch der Vernetzungsgrad des PDMS-Materials keinen Einfluss auf die Hydrophilie der Funktionalisierung besitzen.

Im Weiteren wurden Langzeittests in synthetischem Urin durchgeführt. Die Ergebnisse der Kontaktwinkel-Messungen über den Zeitraum von 10 Tagen ist in Abbildung 36 dargestellt.

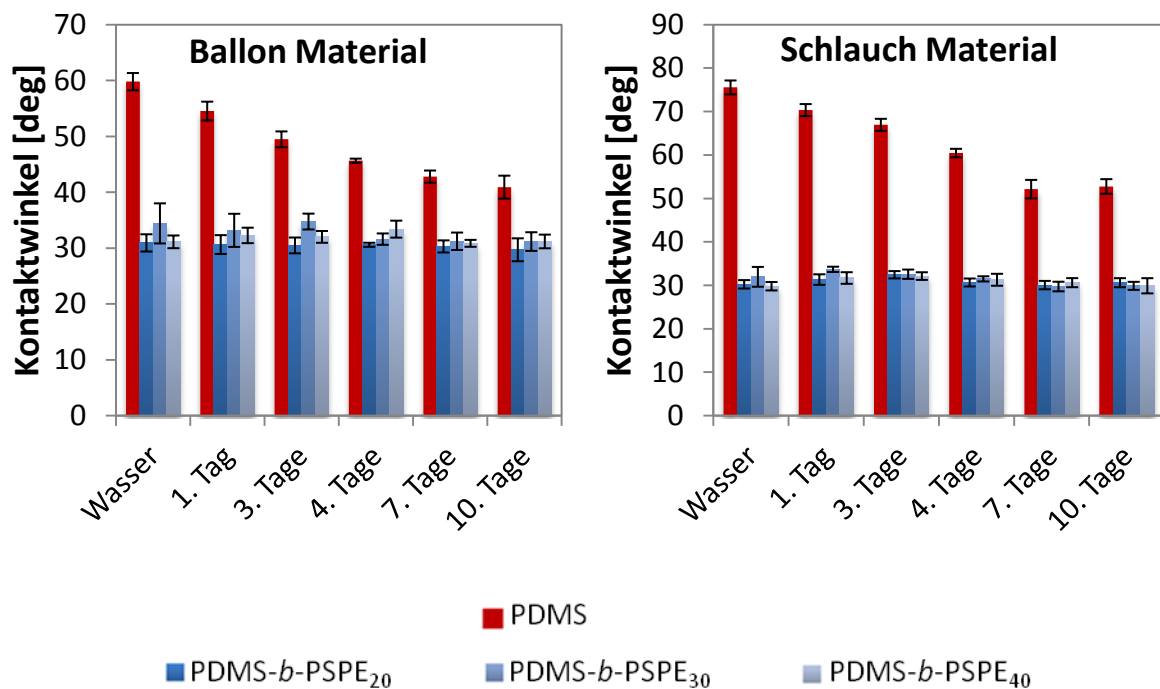


Abbildung 36: Kontaktwinkelbestimmung von Kathetermaterial, PDMS modifiziert ohne und mit den unterschiedlich langen PDMS-*b*-PSPE Polymeren über einen längeren Zeitraum in synthetischen Urin.

Aus dieser Abbildung kann entnommen werden, dass die Zunahme der Hydrophilie der Blindproben unabhängig von der Lagerung ist. Die modifizierten Proben weisen ebenfalls wie bei der Lagerung mit Azid einen Kontaktwinkel von 30° auf. Die Oberflächen der modifizierten Proben sind im Vergleich zu den Blindproben signifikant hydrophiler und über den gesamten Zeitraum konstant. Bezogen auf die Kettenlänge der synthetisierten Polymere ist keine Tendenz der Hydrophilie zu erkennen.

5.3.3 Biofilm Bildung Messungen

Die quantitative Bestimmung der Biofilm-Bildung erfolgte mittels des Kristallviolett-Tests. Dabei bindet sich der Farbstoff an die negativ geladenen Gruppen der Polysaccharide und färbt so die lebenden und toten Zellen an. Die Ergebnisse der quantitativen Bestimmung sind in Abbildung 37 dargestellt. Dabei wurden der Effekt der zwitterionischen Kettenlänge der synthetisierten Polymere auf den Ballon- und Schlauch-Material getestet.

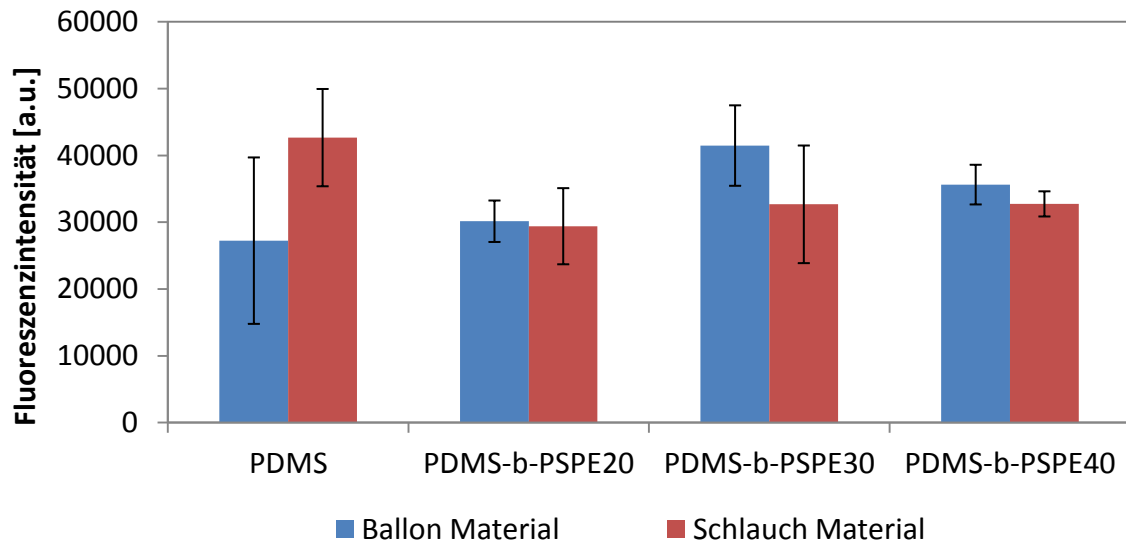


Abbildung 37: Biofilm Formation Messung von Ballon und Schlauch Material im Vergleich zu den unmodifizierten Materialien.

Das modifizierte Ballon-Material weist im Vergleich zum unmodifizierten Ballon-Material einen erhöhten Biofilmbewuchs auf. Bei dem Block-Copolymer PDMS-*b*-PSPE₃₀ überschreitet dieser den Wert sogar um über 50% der Blindprobe. Jedoch fällt der Fehler des Blindwertes für das Ballon-Material sehr hoch aus. Eine Verbesserung konnte hingegen bei dem Schlauch-Material erreicht werden. Für die Funktionalisierung mit dem kleinsten Polymer PDMS-*b*-PSPE₂₀ konnte eine Verbesserung um 30 % erzielt werden, wogegen die andere nur 24 % des Biofilmbewuchses im Vergleich zum Blindwert verhindern konnten.

5.3.4 Proteinadsorptions-Test

Mit der unspezifischen Proteinadsorption beginnt oftmals die Biofilm-Bildung. In diesem Versuch wurde die Proteinadsorption von zwei unterschiedlichen Proteinen getestet. Zum einen dient als Protein Myoglobin, bei welchem es sich mit einem Molekulargewicht von 17 kDa um ein sehr kleines Protein handelt. Zum anderen wird BSA, welches mit 66 kDa fast die vierfache Größe von Myoglobin besitzt, verwendet. Mit Hilfe des *BCA* Assays ist es möglich, die Proteinmenge in Lösung spektrophotometrisch zu bestimmen. Hierzu wurden die adsorbierten Proteine mit Hilfe der SDS von der Oberfläche entfernt und in Lösung bestimmt. Die Ergebnisse für die Proteinadsorption für BSA und Myoglobin sind in Abbildung 38 gezeigt.

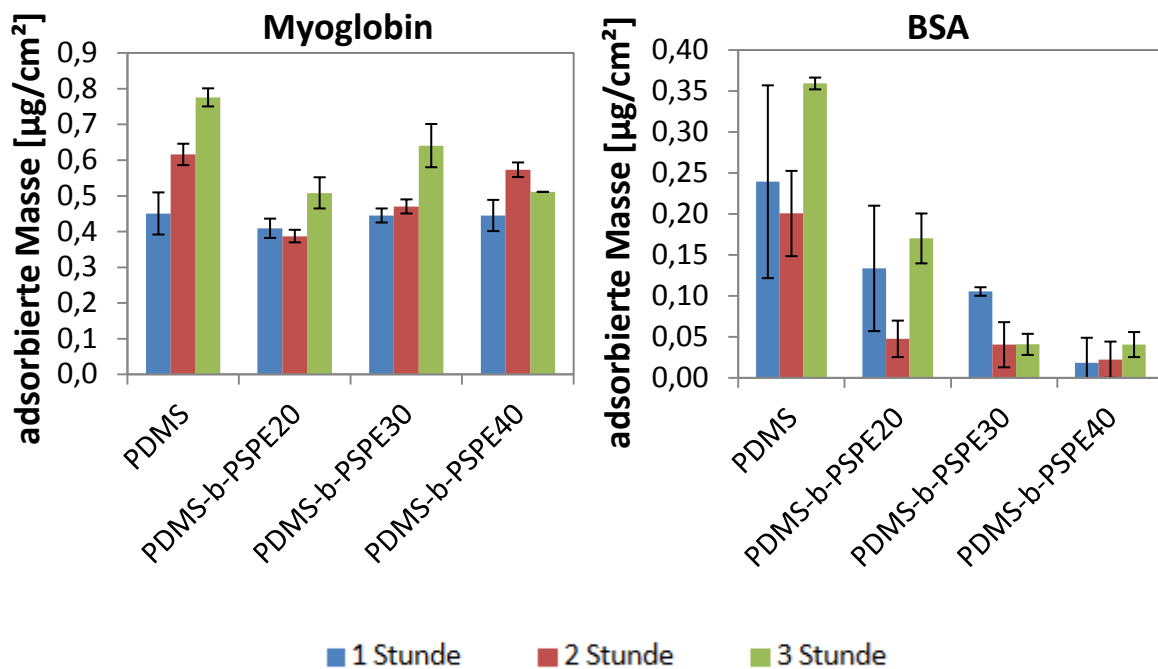


Abbildung 38: Adsorbierte Menge an Myoglobin und BSA an unmodifizierte und modifizierte Schlauch Material über 1, 2 und 3 Stunden.

In der Versuchsreihe wurde die Protein-Adsorption für 1, 2 und 3 Stunden getestet. Bei dem *BCA* Assay handelt es sich um ein sehr störanfälliges Verfahren, was selbst positiv auf das Material PDMS reagiert. Aus diesem Grund wurden große Proben verwendet und es erfolgte eine neunfache Bestimmung. Dennoch wurden besonders bei der BSA-Messung große Fehler gemessen. Bei den Adsorptions-Versuchen mit dem Protein Myoglobin an der unmodifizierten Probe ist ein deutlicher Zuwachs an Protein-Adsorption mit der Zeit zu erkennen. In der ersten Stunde fällt die adsorbierte Menge an Myoglobin der modifizierten Proben im Vergleich zu der unmodifizierten Menge gleich aus. Jedoch reduziert sich die Myoglobin-Adsorption der modifizierten Proben im Vergleich zu den unmodifizierten Proben im Verlauf der weiteren Stunden. Ein wirklicher Trend zwischen der zwitterionischen Kettenlänge des Block-Copolymers, bezogen auf die Myoglobin-Adsorption, ist jedoch nicht zu erkennen. Im Weiteren wurde die Protein-Adsorption von BSA an den Proben vermessen. Für das reine PDMS-Material ist der Trend mit zunehmender Proteinmenge auf der Oberfläche im Laufe der Zeit nicht so stark ausgeprägt. Jedoch fällt die Abweichung der Proben relativ groß aus und nach drei Stunden konnte auch hier die höchste Adsorption an

BSA vermessen werden. Die mittels Adsorption/Entrapment-funktionalisierten Proben weisen eine deutliche Reduzierung der BSA-Adsorption auf. Die besten Ergebnisse konnten hierbei mit den Proben mit dem größten Zwitterionen-Anteil (PDMS-*b*-PSPE₄₀) erhalten werden. An diese Probe adsorbierten 90 % weniger BSA als an der Vergleichsprobe.

5.4 Beschichtungsverfahren via Layer-by-Layer

5.4.1 Beschichtung an Silizium Wafer

5.4.1.1 APTS-Beschichtung

Als Basis für die Beschichtung via *Layer-by-Layer*-Verfahren ist eine geladene Oberfläche erforderlich. Um eine positiv geladene Oberfläche zu schaffen, wurden sowohl die Si-Wafer als auch das PDMS-Kathetermaterial mit APTS silanisiert. Mit Hilfe der Silanisierung werden die funktionellen Hydroxyl-Gruppen des Substrates durch Amino-Gruppen ersetzt. In dieser Arbeit wurde das häufig verwendete Organosilan APTS verwendet. Durch die Hydrolyse entsteht Silanol, welches weiter durch eine Kondensation mit Hydroxyl-Gruppen reagieren kann. Dabei finden zwei unterschiedliche Kondensationsreaktionen statt. Zum einem die Silanol-Kondensation, wobei das APTS polymerisiert und ein dreidimensionales Netzwerk ausbildet. Zum anderen die Bindung an die Hydroxyl-Gruppen des Substrates. In Abbildung 39 ist das Reaktionsschema der Silanisierung und der beiden unterschiedlichen Kondensationsreaktionen schematisch dargestellt.

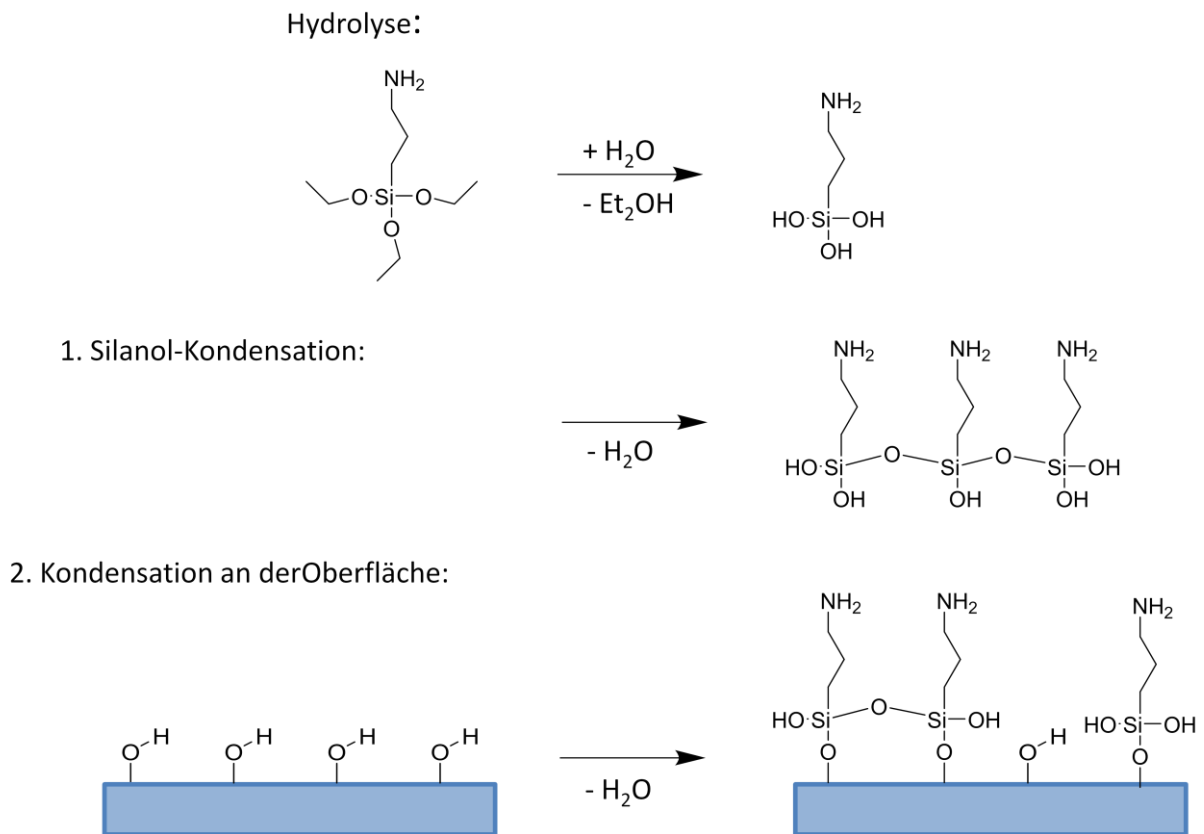


Abbildung 39: Schematische Darstellung der Aminosilanisierung von Substraten in wässriger Lösung mit der Organsilanverbindung APTS.

Nachteil der Modifizierung in wässriger Lösung ist, dass eine Kontrolle über die Schichtdicke kaum möglich ist. Zur Herstellung einer Monolage erfolgte die Silanisierung der Si-Wafer durch die APTS-Modifikationsmethode in organischem Lösungsmittel. Hierbei fand die Kondensationsreaktion unter Verwendung hoher Temperaturen statt. Im Vorhinein musste die Probe gründlich mit Piranha-Säure gereinigt werden. Dies hatte gleichzeitig den Effekt, dass Hydroxyl-Gruppen auf der Oberfläche entstanden, welche im Weiteren für die Aminierung genutzt werden konnten. Der Kontaktwinkel betrug hierbei $15 \pm 3^\circ$. Laut Archibald et al. beträgt der Kontaktwinkel für monomolekular silanisierte Si-Wafer zwischen 53° und 59° ¹³⁶. Wenngleich für die *Layer-by-Layer*-Beschichtung keine exakte monomolekulare Silanisierung nötig ist, ist dies für die verschiedenen Auswertungsverfahren dennoch hilfreich. Aus diesem Grund wurden für die APTS-Modifikationsmethode Si-Wafer, welche einen Kontaktwinkel von $56 \pm 5^\circ$ aufwiesen, verwendet.

Für die Aminierung von PDMS-Kathetern ist ebenso die Erzeugung von Hydroxyl-Gruppen als Verankerungsstelle für das APTS an der Oberfläche notwendig. Hierzu erfolgte zunächst eine Hydrolyse der Oberfläche zu Si-OH mittels eines Gemischs aus Salzsäure, Wasserstoffperoxid und Wasser im Verhältnis 1:1:5. Im Anschluss erfolgte die Silanisierung mittels APTS in wässriger Lösung.

Bei beiden Materialien wurde die Funktionalisierung mit APTS mit Hilfe des Ninhydrin-Tests, als quantitativer Nachweis der primären Aminogruppen, auf der Oberfläche bestätigt. Die deutliche violette Färbung der Oberfläche bewies die Anwesenheit von primären Aminogruppen auf dem jeweiligen Material.

5.4.1.2 Ellipsometrie Ergebnisse

Mit Hilfe der Ellipsometrie wird die optische Gesamtschichtdicke der verschiedenen Beschichtungen auf dem glatten Si-Wafer ermittelt. Die Bestimmung der Schichtdicken erfolgte für alle synthetisierten kationischen Polymere bis zu der vierten Schicht und startete jeweils mit der anionischen PSS-Schicht. In der folgenden Abbildung 40 sind die Gesamtschichtdicken der mit *Layer-by-Layer*-Verfahren modifizierten Si-Wafer mit unterschiedlichen kationischen Polyelektrolyten gegen die Anzahl der Schichten aufgetragen.

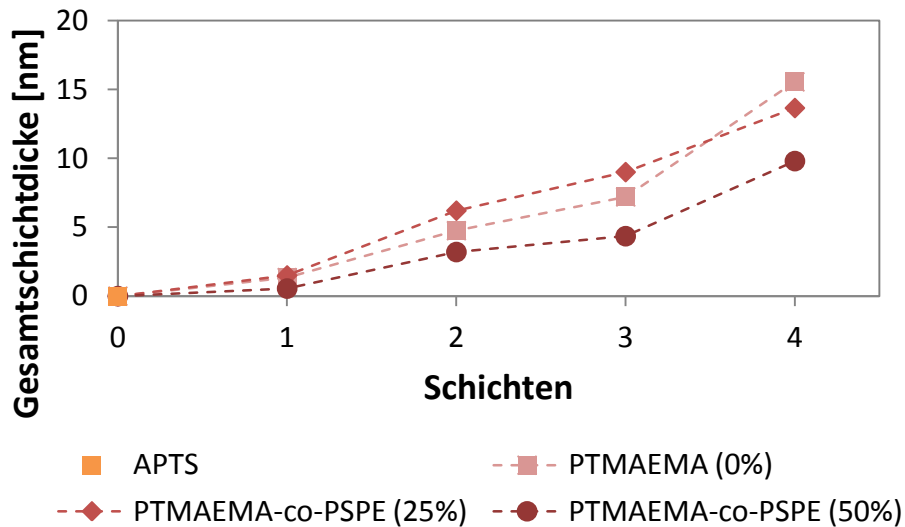


Abbildung 40: Ergebnisse der Ellipsometrie-Messungen: Gesamtschichtdicke auf zuvor modifizierten SiWafers- nach LbL-Beschichtung mit PSS und PTMAEMA-co-PSPE mit variierten zwitterionischen Gruppen in Abhängigkeit von der Anzahl an Schichten.

Dabei wiesen alle Modifikationsschritte eine systematische Erhöhung der Schichtdicke auf. Jedoch fällt die Wachstumsrate bei den jeweiligen Polyelektrolyten durch die Variierung der zwitterionischen Gruppen unterschiedlich aus. Die Schichtdicke der kationischen Schicht fiel im Allgemeinen größer aus als die der anionischen PSS-Schicht. Die PSS-Schichten weisen eine durchschnittliche Schichtdicke von 2 nm auf. Die Schichtdicken der kationischen Polymere mit einem zwitterionischen Anteil von 0 % und 25 % zeigen ein ähnliches Verhalten auf, wohingegen der Verlauf der Beschichtung der Proben mit einem zwitterionischen Anteil von 50 % einen geringfügigeren Zuwachs der Gesamtschichtdicke aufweist.

5.4.1.3 Röntgenphotoelektronenspektroskopie Ergebnisse

Neben der Schichtdicken wurde auch die chemische Zusammensetzung der Beschichtung mittels Röntgenphotoelektronenspektroskopie untersucht, welche Informationen über die atomare Zusammensetzung der Oberfläche lieferte. Im Folgenden wird der Multischichten-Aufbau, bei dem das Polymer PSS als anionischer Polyelektrolyt und das PTMAEMA ohne zwitterionischem Anteil als kationischer Polyelektrolyt verwendet wurde, untersucht. Hierbei wird der Schwerpunkt auf die Bindungsenergien von 103.3 eV für SiO₂, 169.5 eV für Schwefel

(2p), 285.5 eV für Kohlenstoff (1s) und 400.8 eV für Ammonium (NH_3^+) gelegt. In Abbildung 41 sind die Ergebnisse der XPS-Analyse von Kohlenstoff und Silizium aufgetragen.

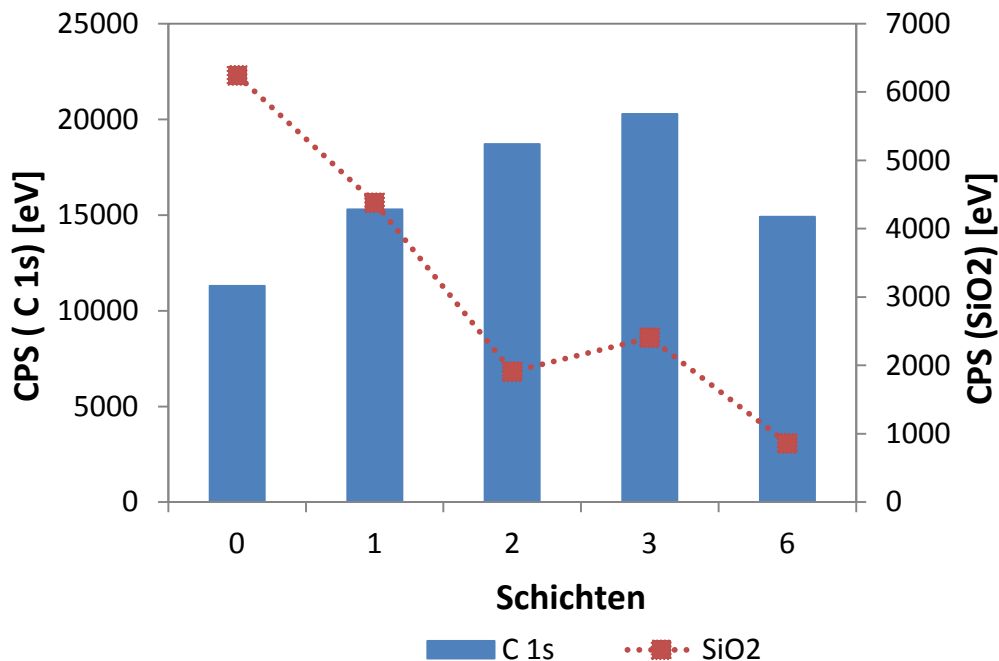


Abbildung 41: Ergebnisse der XPS-Analyse. Gehalt an Kohlenstoff (1s) und SiO_2 in der Oberfläche von vormodifizierten Si-Wafern und nach *Layer-by-Layer*-Beschichtung in Abhängigkeit von der Anzahl der einzelnen Schichten mit PSS als Polyanion und PTMAEMA als Polykation.

In der Abbildung steht die nullte Schicht für den silanisierten Si-Wafer. Die weiteren Zahlen entsprechen der Schichtanzahl. Der größte Anteil an Silizium ist in der nullten Schicht zu erkennen. Mit zunehmender Beschichtung nimmt die Menge an Silizium ab. Ausnahme hierbei ist die dritte Schicht. Hierbei ist jedoch festzuhalten, dass es sich bei der Messung nicht um ein und dieselbe Probe handelt, sodass leichte Abweichungen entstehen könnten. Im Gegensatz zum Silizium nimmt der Kohlenstoff-Gehalt mit steigender Schichtzahl mit Ausnahme der sechsten Schicht aufgrund der zunehmenden Anwesenheit von Polymeren zu. Abbildung 42 zeigt die quantitative Analyse der Schichtzusammensetzung von Schwefel und Stickstoff.

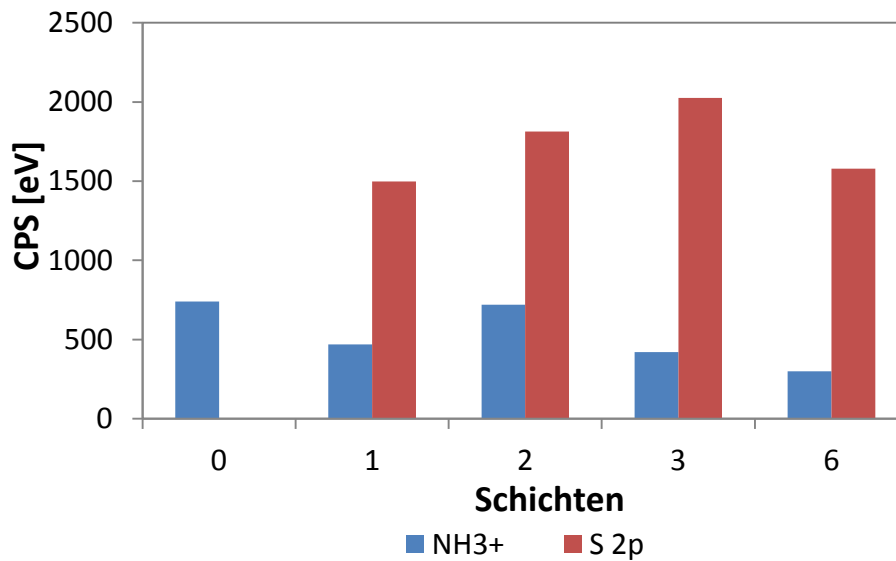


Abbildung 42: Ergebnisse der XPS-Analyse von vormodifizierten Si-Wafern und nach *Layer-by-Layer*-Beschichtung in Abhängigkeit von der Anzahl der einzelnen Schichten mit PSS als Polyanion und PTMAEMA als Polykation: Oberflächen an Ammonium- (NH_3^+) und Schwefel- (2p) Gehalt.

Der Stickstoff ist ein nützlicher Indikator für die Anwesenheit einer positiv geladenen Schicht. Sowohl in dem mit APTS vorbeschichteten Si-Wafer (0. Schicht) als auch im kationischen Polyelektrolyten ist dieser vorhanden. Beim Vergleich der relativen Menge des Stickstoff-Signals unter der Schichtanzahl ist ein oszillierender Zusammenhang zu erkennen. Wie bereits beim Kohlenstoff-Signal, scheint die sechste Schicht dem erwarteten Verlauf nicht zu folgen. Das Schwefel-Signal hingegen sollte sich gegenläufig zum Stickstoff-Signal verhalten, da es nur durch die anionische Schicht mittels des Polymers PSS in dem Schichtsystem auftritt. Hierbei war die Änderung analog zu dem Kohlenstoffgehalt. Aufgrund des senkrechten Röntgenstrahls beträgt die Eindringtiefe bis zu 10 nm. Durch die beachtliche Informationstiefe sind Abweichungen in den Ergebnissen nicht unerwartet. Trotzdem scheint die Beschichtung via *Layer-by-Layer*-Technik erfolgreich zu sein.

5.4.1.4 Kontaktwinkelmessungen

Mit Hilfe der Kontaktwinkelmessung wird die Hydrophilie der *Layer-by-Layer*-Beschichtung bestimmt. Zunächst erfolgte die Messung der Abscheidung der Polymere auf Si-Wafern nach jeder Schicht. Die Messung wurde mittels „sessile drop“-Methode und mit Young-Laplace-Fitting durchgeführt. In Abbildung 43 sind die Kontaktwinkel der alternierenden

Schichtsysteme mit der Auftragung von anionischen PSS und den kationischen Polymeren mit 0 % und 25 % zwitterionischem Anteil aufgetragen.

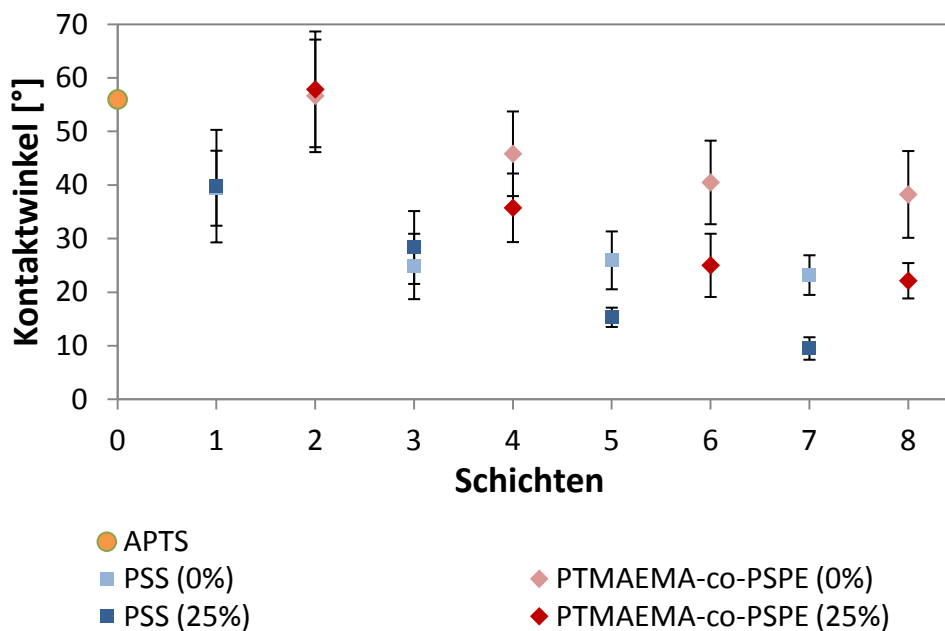


Abbildung 43: Kontaktwinkelmessungen an Si-Wafer mit PSS und PTMAEMA-co-PSPE mit 0% und 25% zwitterionischen Anteil in einem alternierendem Schichtsystem.

Der Kontaktwinkel der mit APTS vormodifizierten Si-Wafer betrug ungefähr 56 °; dies deutet auf eine einheitliche Monolage von APTS hin¹³⁶. Die Modifizierung der einzelnen Schichten führt zu einer Verringerung des Kontaktwinkels. Nach der sechsten Schicht wurde ein Plateau erreicht, nach welchem jede weitere Schicht keine weiteren Veränderungen des Kontaktwinkels aufzeigten. Die Kontaktwinkel wiesen über die ganze Messung einen oszillierenden Verlauf auf, wobei der Kontaktwinkel des PSS jeweils niedriger war als von dem synthetisierten Polykation. Die Beschichtung mit dem Polykation ohne zwitterionischen Anteil erreicht einen Kontaktwinkel von 40 °. Durch die Variierung des Polykations mit 25 % Zwitterionen im Polymer ist der Kontaktwinkel mit 22 ° deutlich geringer. Durch die weitere Erhöhung des zwitterionischen Anteils auf 50 % im Polymer liegen die Kontaktwinkel in demselben Bereich, wie mit 25 % zwitterionischem Anteil. Jedoch weist, wie in Abbildung 44 gezeigt, die alternierende Abscheidung von PSS und dem Polymer PTMAEMA-co-PSPE mit 50 % zwitterionischem Anteil keine derartige Systematik auf, wie bei den anderen Messungen.

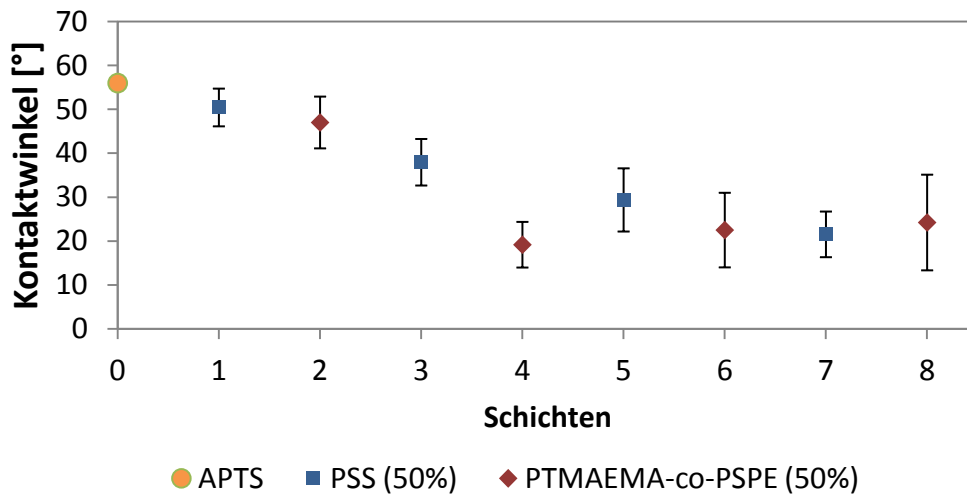


Abbildung 44: Kontaktwinkelmessungen an Si-Wafer mit PSS und PTMAEMA-co-PSPE mit 50% zwitterionischen Anteil

Mit steigender Anzahl der Schichten sinkt der Kontaktwinkel gleichmäßig ab. Eine Ausnahme stellt hier Schicht vier da. Dies unterscheidet sich somit von den anderen untersuchten Beschichtungen mit Polykationen mit einem zwitterionischem Anteil von 0 % und 25 %. Trotz der fehlenden Systematik der Schichten, scheint auch hier ab der sechsten Schicht das Minimum erreicht worden zu sein. Mit jeder weiteren folgenden Schicht veränderte sich der Kontaktwinkel nicht mehr.

Aufgrund der Antifouling-Wirkung von Zwitterionen sollte die Beschichtung mit der kationischen Schicht beendet werden. Ab der sechsten Schicht hat das zu beschichtende Material bei allen Polykationen keinen Einfluss auf den Kontaktwinkel mehr besessen, weshalb in den nächsten Schritten mit einem Sechs-Schichtensystem gearbeitet wird.

5.4.1.5 Zeta-Potential Messungen

Die Untersuchung der Oberflächenladung erfolgte mittels der Zeta-Potential-Messung. In Abbildung 45 ist die Abhängigkeit der jeweiligen Schichten zum Zeta-Potential bei einem pH-Wert von 6.5 dargestellt. Die Si-Wafer wurden hierbei mit einem Sechs-Schichten-System, bei dem jeweils der zwitterionische Anteil in dem Polykation variiert wurde, beschichtet.

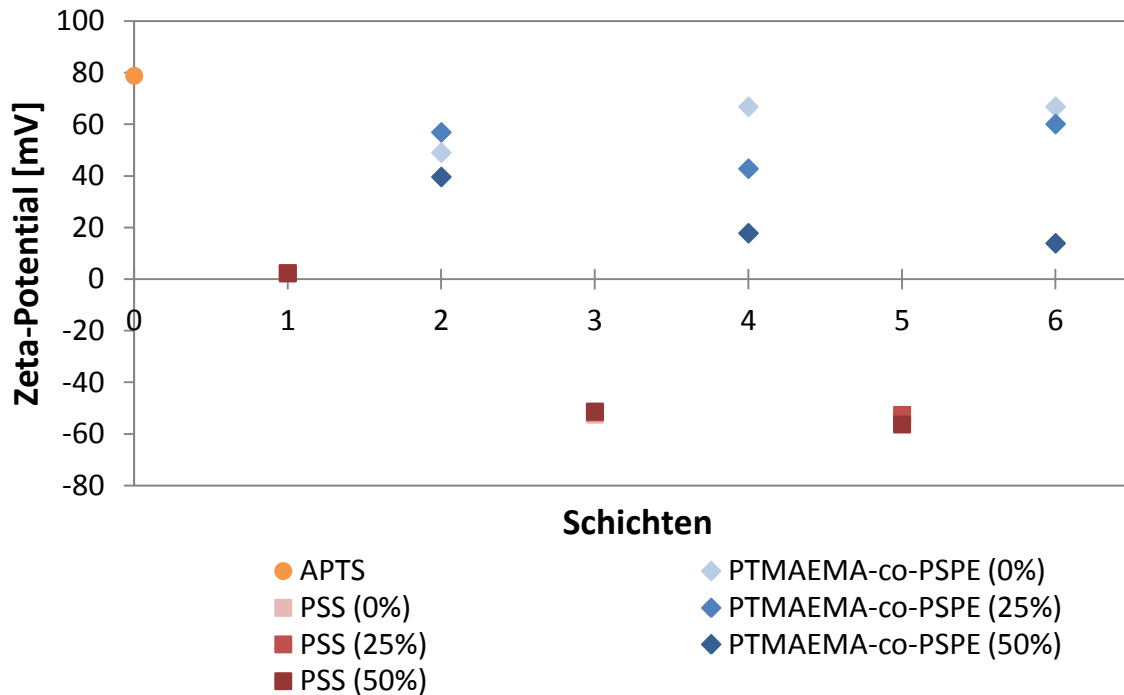


Abbildung 45: Auftragung der Zeta-Potentiale bei pH-Wert von 6.5 der verschiedenen LbL-Beschichtungen mit den verschiedenen Polykationen auf Si-Wafern gegen die Schichtzahl.

In allen Fällen wurde eine oszillierende Änderung des Zeta-Potentials beobachtet, was auf das alternierende Beschichten mittels positiver und negativ geladener Polyelektrolyten zurück zu führen ist. Als Anfangswert wird hier der mit APTS vormodifizierte Si-Wafer mit einem Zeta-Potential von 79 mV ermittelt. Die ungeraden Schichtzahlen stehen hierbei für die Beschichtung mit dem anionischen Polyelektrolyten PSS und weisen für alle verwendeten kationischen Polymere kaum nennenswerte Unterschiede hinsichtlich des Zeta-Potentials auf. Dies spricht für ein gut reproduzierbares Ergebnis. Die geradzahlig Schichtenanzahlen, bei welchen das Polykation als oberste Schicht vorliegt, weisen ein positives Zeta-Potential auf. Jedoch weichen die gemessenen Zeta-Potentiale der unterschiedlichen Polykationen mit zunehmender Schichtzahl stärker voneinander ab. Ab der vierten Schicht ist ein deutlicher Trend ersichtlich: Das Polykation, bestehend aus rein kationischen Gruppen, besitzt ein weit höheres Zeta-Potential als das Polykation mit einem zwitterionischen Anteil von 25 %. Am geringsten ist der gemessene Wert für das Zeta-Potential des Polymers mit 50 % zwitterionischem Anteil. Die Differenz der Zeta-Potentiale zwischen den Polykationen mit 0 % und 50 % liegt in der vierten Schicht bei 49 mV und in der sechsten Schicht bei 53 mV.

5.4.2 Beschichtung an Silikon-Kathetermaterial

Nach der erfolgreichen Realisierbarkeit der *Layer-by-Layer*-Beschichtung auf dem Modellsystem Si-Wafer, erfolgte im nächsten Schritt die Übertragung des Verfahrens auf das Kathetermaterial. Hierbei wurden die beiden unterschiedlichen Materialien für den Ballon und den Schlauch des Katheters getestet. Nach der Modifizierung mittels APTS erfolgte die alternierende Beschichtung mit den gleichen Polyelektrolyten unter denselben Bedingungen wie für das Modellsystem SiWafer.

5.4.2.1 Kontaktwinkel-Messung

Der Einfluss der Oberflächenfunktionalisierung via *Layer-by-Layer*-Technik auf die Hydrophilie des PDMS-Materials wurde mittels Kontaktwinkel bestimmt. In Abbildung 46 ist der Kontaktwinkel der jeweils neu aufgetragenen Polymerschichten für das Ballon- und Schlauch-Material dargestellt. Die Kontaktwinkel wurden hierbei mittels der „captive bubble“-Methode und *Ellipse Fitting* bestimmt.

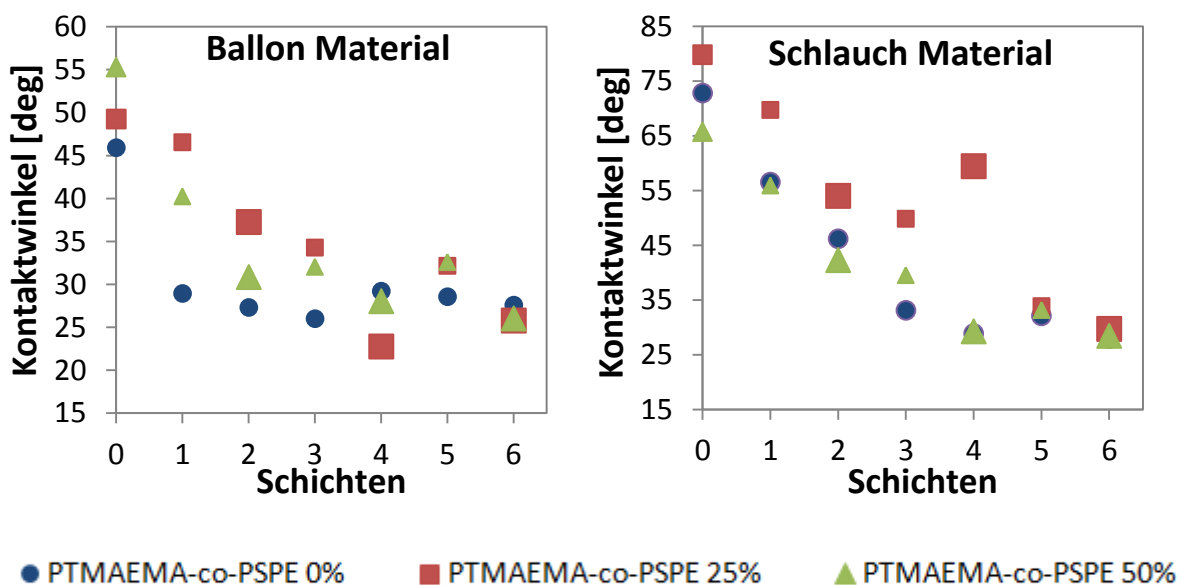


Abbildung 46: Ergebnisse der Kontaktwinkelmessungen der einzelnen Schichten an Ballon und Schlauch Material als Polyelektrolyte: PSS und PTMAEMA-co-PSPE mit varierten zwitterionischen Anteil.

Wie bei den Si-Wafern zeigt die Auftragung des Kontaktwinkels gegen die Schichtanzahl einen abfallenden Verlauf, bis der Kontaktwinkel sich in einem Bereich zwischen 25 ° und 30 ° einpendelt. Die Anfangsschicht besteht aus den mit APTS-funktionalisierten PDMS-

Proben. Hierbei fällt auf, dass keine gleichmäßig reproduzierbaren Lagen an APTS-Beschichtungen vorliegen. Die Kontaktwinkel unterscheiden sich um 10°. Die silanisierten Proben weichen geringfügig von dem unmodifizierten Material ab und sind somit leicht hydrophiler. Die Kontaktwinkel der unmodifizierten Proben liegen für das Schlauch-Material bei ungefähr 80° und für das Ballon-Material bei ungefähr 60°.

Durch die Funktionalisierung wird die Oberfläche mit zunehmender Schicht hydrophiler. Im Vergleich zum SiWafer weisen die Kontaktwinkel nur eine schwache oszillierende Änderung von Schicht zu Schicht auf. Die Variierung des zwitterionischen Anteils bei der Beschichtung nimmt keinen Einfluss auf die Kontaktwinkel-Messung, da der Verlauf der Messung mit den unterschiedlichsten Polykationen sich relativ identisch verhält. Jedoch belegen die Ergebnisse eine erfolgreiche *Layer-by-Layer*-Beschichtung, die die Oberflächeneigenschaften hinsichtlich der Hydrophilie verbessert.

5.4.2.2 Zeta-Potential Messungen

Mit Hilfe des Zeta-Potentials wird die Oberflächenladung der einzelnen Schichten bestimmt. In Abbildung 47 sind die Zeta-Potentiale der jeweiligen Schichten des Ballon- und Schlauch-Materials bei einem pHWert- von 6.5 dargestellt. Bei der Funktionalisierung handelt es sich um ein sechsschichtiges System, welches im Hinblick auf seine Modifikation unterschiedliche Konzentrationen an Zwitterionen aufweist.

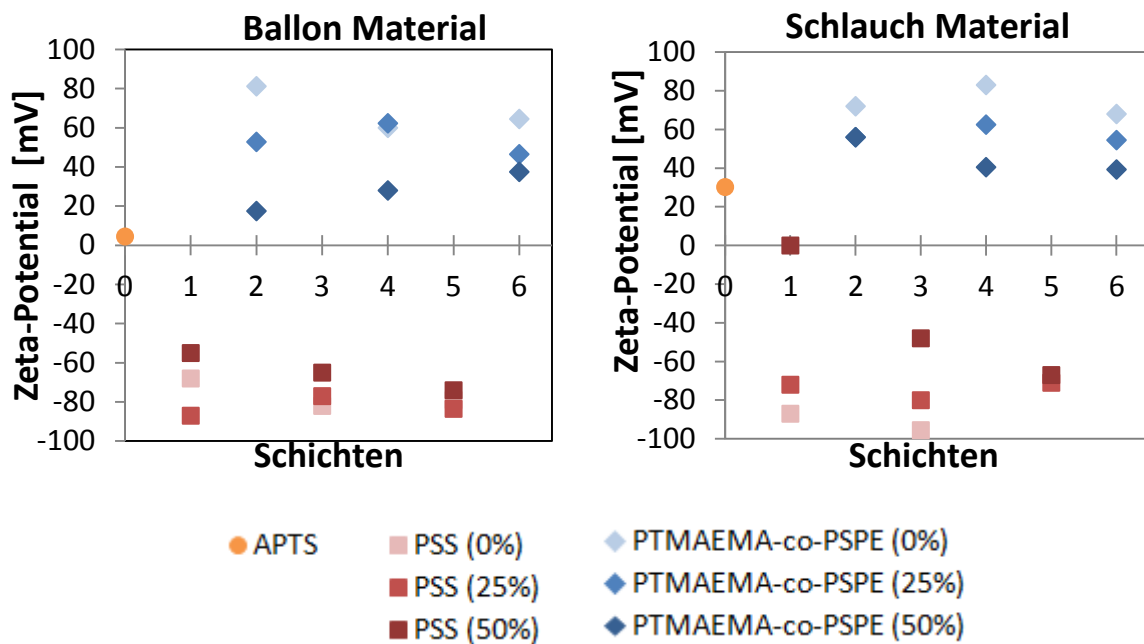


Abbildung 47: Auftragung der Zeta-Potentiale bei pH-Wert von 6.5 der verschiedenen *LbL*-Beschichtungen mit den verschiedenen Polykationen auf Ballon und Schlauch Material gegen die Schichtzahl.

Wie in dem Modellsystem Si-Wafer ist auch hier eine oszillierende Entwicklung mit zunehmender Schichtanzahl zu erkennen. Die mit APTS vorfunktionalisierte Probe zeigt lediglich eine schwach ausgebildete positive Ladung. Die Ladung scheint jedoch ausreichend zu sein, um ein Schichtsystem erfolgreich auszubilden. Die anionischen Schichten mit PSS weisen bei beiden Materialien recht konstante Zeta-Potentiale auf. Ausnahme ist die erste Schicht beim Schlauch-Material bei einer Beschichtung mit dem Polykation mit einem zwitterionischen Anteil von 50 %. Allerdings kann dies durch die weiteren Schichten wieder kompensiert werden. Zudem zeigt die Abbildung, dass die Zeta-Potentiale der kationischen Schichten durch die Variierung des zwitterionischen Teils beeinflusst werden. Mit steigendem zwitterionischen Anteil sinkt das Zeta-Potential bei gleichbleibendem pH-Wert ab.

5.4.2.3 Rasterkraftmikroskopie Ergebnisse

Mittels der Rasterkraftmikroskop-Messung (AFM) wird die Änderung der Oberflächenmorphologie der Funktionalisierung via *Layer-by-Layer*-Technik visualisiert. Hierbei wurden die Unterschiede der unmodifizierten PDMS mit den funktionalisierten

Oberflächen verglichen. Hierbei wurden sowohl die Effekte der Konzentration an Zwitterionen als auch jene des Trocknungsprozesses untersucht. In Abbildung 48 sind die Topographien des Schlauch-Materials nach zweiwöchiger Trocknung an Luft dargestellt. Das in Abbildung 48a gezeigte unmodifizierte Schlauch-Material, präsentiert eine relativ glatte, kompakte und mikroskopisch homogene Oberfläche. Aufgrund des Herstellungsverfahrens durch Pressen der Gießlösung sind auf der Oberfläche in regelmäßigen Abständen makroskopische Vertiefungen vorhanden. Durch die Silanisierung der Probe mit APTS erhöht sich die Rauigkeit der Probe deutlich. Die Oberfläche weist eine interessante baumartige Topographie auf. Diese besondere Struktur ist typisch für Trocknungsprozesse auf Oberflächen. Die Silanisierung in wässrigen Lösungen hat den Nachteil, dass nur wenig Kontrolle über die Schichtdicken möglich ist. Die zwei Kondensationsreaktionen, welche in Abbildung 39 schematisch dargestellt sind, treten in Konkurrenz zueinander. Die Silanol-Kondensation führt zu dreidimensionalen Polysiloxan-Netzwerken. Diese können sich an die Hydroxyl-Gruppen der Oberfläche binden, wodurch die Pflropfdichte auf dem Substrat beeinflusst wird. Durch das Trocknen der aminofunktionalisierten Schicht können sich die Moleküle auf der Oberfläche zusammenziehen und es bilden sich partielle Aggregate. Weiterhin wurden die Proben mit einem Sechs-Schichten-System mit 0 % und 50 % zwitterionischem Anteil im Polykation untersucht und sind in Abbildung 48c und d abgebildet. Die Topographien dieser Funktionalisierung zeigen eine über die ganze Fläche einheitliche Struktur auf. Mit beiden Polykationen konnte eine gleichmäßige Abdeckung des Materials erreicht werden.

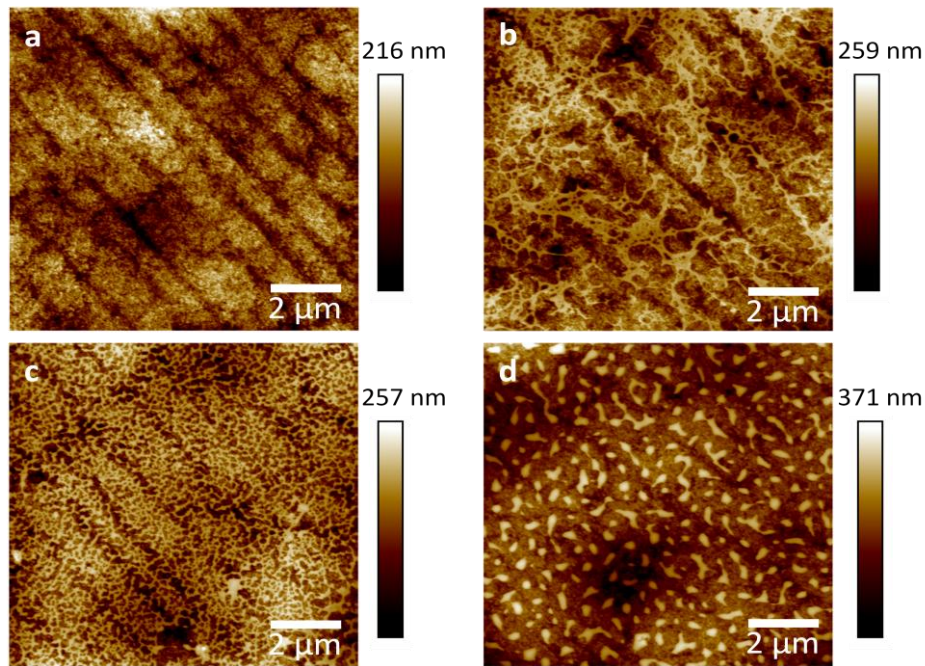


Abbildung 48: Topographische Bilder der an Luft getrockneten Schlauch Material: a) unmodifiziertes PDMS; b) APTS modifiziertes PDMS; c-d) mittels *LbL*-modifiziertes PDMS: Beschichtung aus 6 Lagen mit 0% Zwitterionen Anteil (c) und 50% Zwitterionen Anteil (d).

Dabei zeigen die Topographien der mittels *Layer-by-Layer*-Technik modifizierten PDMS große Unterschiede zwischen den jeweiligen verwendeten Polykationen auf. Die Oberfläche mit dem Sechs-Schichten-System ohne Zwitterion zeigt über den ganze Bereich eine viel homogener Schicht auf als die Modifikation mit dem Polykation mit einem zwitterionischen Anteil von 50 %. Beim Letzteren bilden sich weitaus größere Aggregate, was sich auch in der Rauheit der Probe widerspiegelt. Da diese Proben an der Luft zwei Wochen getrocknet wurden, könnte dieser Effekt durch die Trocknung von Wasser zustande gekommen sein. Um dies zu prüfen, wurde die Probe, welche mit dem Polymer mit 50 % zwitterionischem Anteil beschichtet wurde, für einen Vergleich zunächst im trockenen Zustand vermessen. Die Topographie dieser Probe nach einmonatiger Lufttrocknung ist in Abbildung 49a dargestellt. Anschließend wurde die gleiche Probe unter Wasser vermessen. Hierzu wurde ein Tropfen Wasser auf die Probe gegeben und nach einer Stunde unter Wasser vermessen.

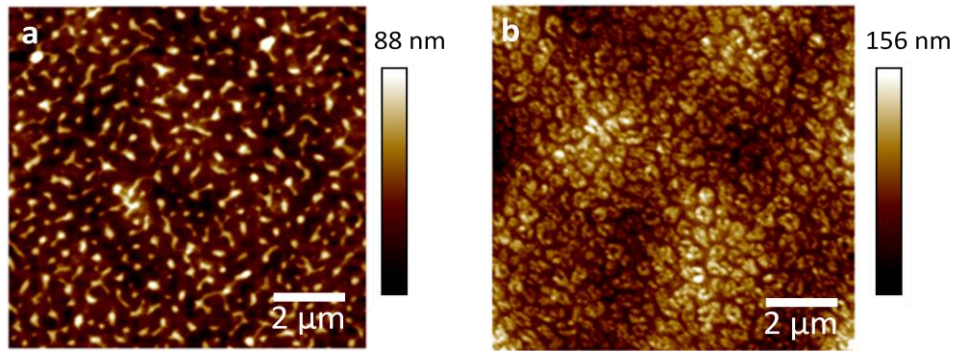


Abbildung 49: Topographische Bilder von 6 Schichten System mit 50% Zwitterionen Anteil der gleichen Stelle a) Luftgetrocknete b) in Wasser aufgenommen.

Durch die Wechselwirkung der Beschichtung mit Wasser quellen die Oberflächen auf. Die topographischen Aufnahmen der reäquilierten Oberfläche visualisieren eine Struktur mit kleiner ringförmiger Anordnung. Um den Einfluss des Trocknungsprozesses weiter zu untersuchen, erfolgte ein Vergleich zwischen einer nicht getrockneten, einer luftgetrockneten und einer gefriergetrockneten Probe. Dabei handelte es sich um eine gleiche Probe, die in drei Probenteile unterteilt wurde, welche dann auf unterschiedliche Weise getrocknet wurden. Die Topographien dieser Proben, welche mit einem sechsschichtigen System mit dem Polykation mit 50 % zwitterionischem Anteil via *Layer-by-Layer*-Technik modifiziert wurden, sind in Abbildung 50 gezeigt.

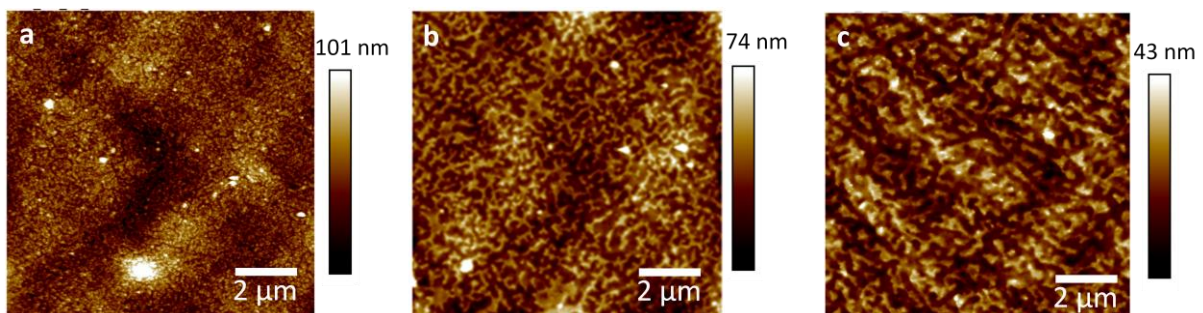


Abbildung 50: Einfluss des Trocknungsprozesses auf die topographische Bilder von 6 Schichten System mit 50% Zwitterionen Anteil a) in Wasser aufgenommen b) Luft-getrocknet (1 Tag) c) gefriergetrocknet.

Die Abbildung verdeutlicht, dass die gleiche Probe unterschiedlich auf den Trocknungsprozess reagiert. Die nassen Proben (Abbildung 50a) weisen eine sehr feine homogene Beschichtung auf. Bei der Probe, welche einen Tag an der Luft getrocknet wurde, ist eine baumartige Struktur zu erkennen. Durch die relativ kurze Trocknungszeit ist der Segregationsgrad noch nicht so stark ausgebildet, wie bei Abbildung 48 und Abbildung 49.

Jedoch erkennt man, dass sich die Beschichtung langsam zu Domänen zusammenzieht. Durch die Trocknung kommt es mit der Zeit zur Bildung von Segregationen auf der Probe. Eine schonendere Trocknung ist die Gefriertrocknung, welche auf dem physikalischen Prozess der Sublimation beruht. Diese Art der Trocknung wurde im Weiteren ebenfalls mit einem Probenstück der gleichen Probe untersucht und ist in Abbildung 50c dargestellt. Die Probe weist eine sehr homogene Beschichtung und eine starke Reduzierung der Segregation auf.

Desweiteren erfolgten AFM-Messungen mit dem Ballon-Material. In Abbildung 51 sind die verschiedenen Topographien der unmodifizierten und modifizierten Proben des Ballon-Materials dargestellt. Die Proben wurden für die Messung einen Tag an der Luft getrocknet.

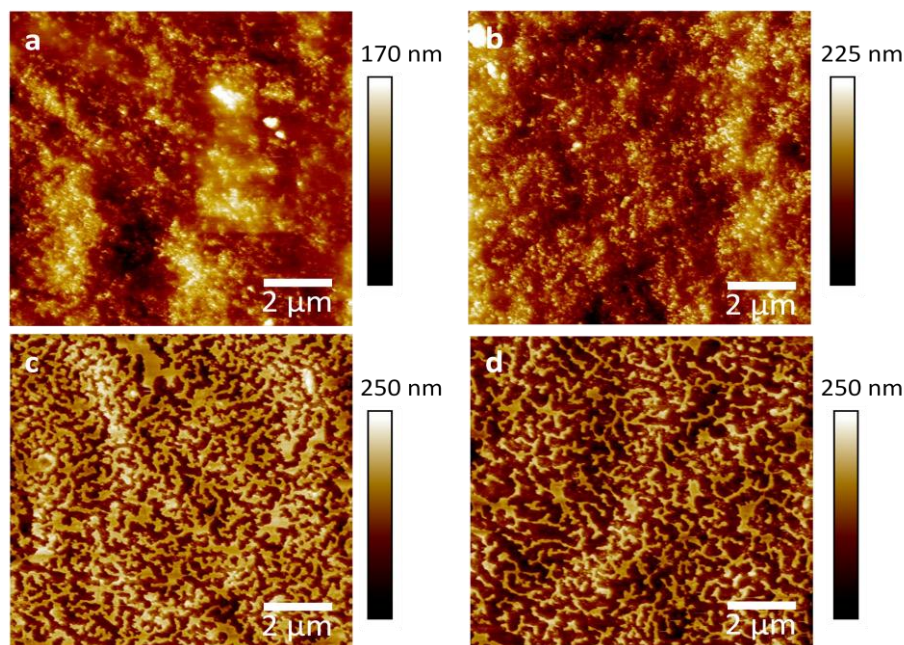


Abbildung 51: Topographische Bilder der an Luft getrockneten Ballon Material: a) unmodifiziertes PDMS; b) APTS modifiziertes PDMS; c-d) mittels LbL-modifiziertes PDMS aus 6 Lagen mit 0% Zwitterionen Anteil (c) und 50% Zwitterionen Anteil (d).

Im Vergleich zum Schlauch-Material ist das Ballon-Material um einiges elastischer und es stellte sich heraus, dass die Sondenspitze sich in dem unmodifizierten Material verklebt. Dies ist besonders in der Topographie des unmodifizierten Ballon-Materials ersichtlich (Abbildung 51a). Eine Verbesserung der Materialeigenschaft für die AFM-Messung wurde bereits mit der silanisierten Probe erreicht. Nach einem Tag Trocknungszeit wies die Probe eine sehr homogene Beschichtung des Materials auf. Durch den Vergleich der unterschiedlichen

zwitterionischen Konzentrationen des sechsschichtigen-Systems von einerseits 0 % und andererseits 50 % wird deutlich, dass eine Abhängigkeit zwischen Oberflächentopografie und Ladungsdichte des Polykations besteht. Bei dem Polykation mit Zwitterionen ziehen sich die Schichten untereinander stärker zusammen als bei dem Polykation ohne Zwitterionen. Jedoch entsteht durch beide Polykationen eine stabile homogene Beschichtung.

5.4.3 Enzym Immobilisierung

Die Immobilisierung des negativ geladenen Enzymes Cellobiose Dehydrogenase (CDH) erfolgte mittels *Layer-by-Layer*-Beschichtung. Hierbei bleibt der Aufbau des sechsschichtigen Systems gleich, jedoch wird jeweils eine anionische Polymerschicht durch das Enzym ersetzt. So befindet sich das Enzym entweder in der dritten oder in der fünften Schicht und ist fest in das Mehrschichtensystem eingebettet.

5.4.3.1 Kontaktwinkel-Messung

Um die Wirkung der Immobilisierung des Enzymes auf das *Layer-by-Layer*-Schichtsystem zu untersuchen, erfolgten zunächst die Kontaktwinkel-Messungen. In Abbildung 52 sind die Kontaktwinkel der alternierenden Schichtsysteme mit der Auftragung von anionischen PSS und den kationischen Polymeren mit 0 %, 25 % und 50 % zwitterionischem Anteil und dem Enzym CDH in der dritten Schicht für Ballon- und Schlauch-Material aufgetragen.

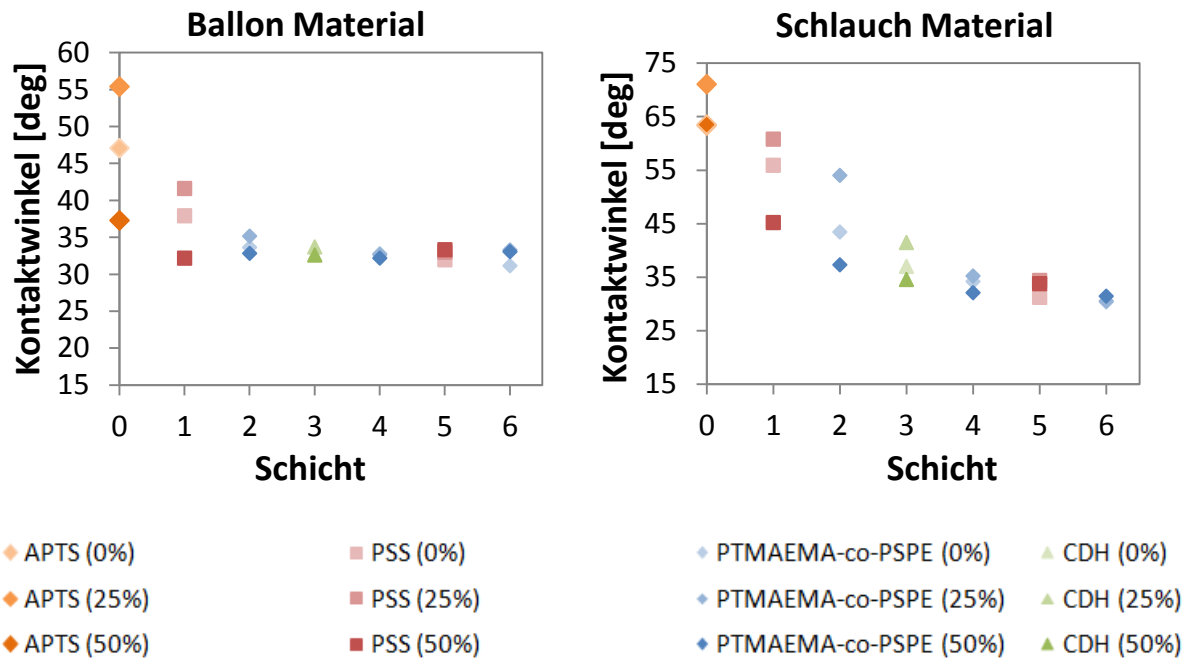


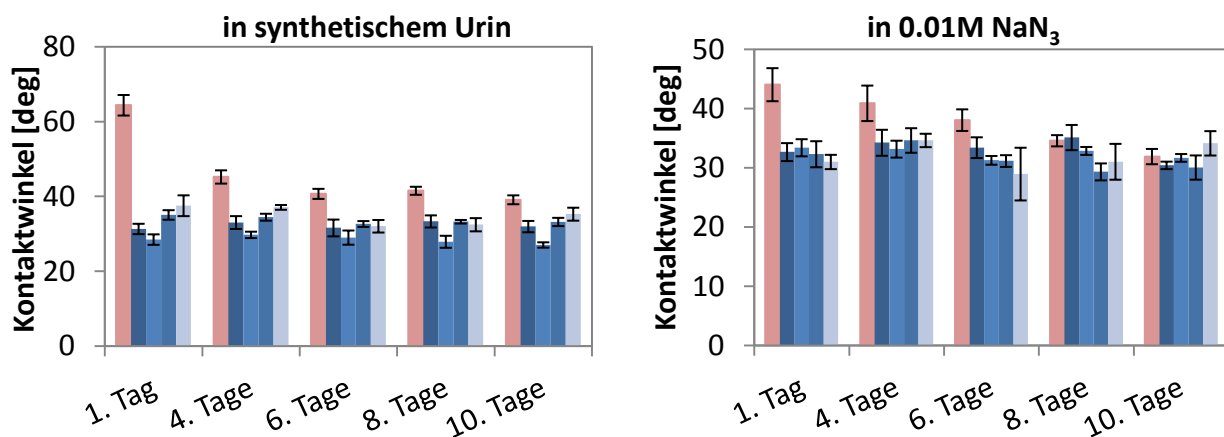
Abbildung 52: Ergebnisse der Kontaktwinkelmessungen der einzelnen Schichten an Ballon und Schlauch Material als Polyelektrolyte: PSS und PTMAEMA-co-PSPE mit variierten zwitterionischen Anteil und dritte Schicht mit Enzym CDH.

Die Auftragung der Kontaktwinkel zeigt einen deutlichen Anstieg der Hydrophilie der Oberfläche mit der Adsorption jeder weiteren Schicht. Wie auch schon in den vorherigen Messungen pendelt sich der Kontaktwinkel in einem konstanten Bereich ein. In dieser Messreihe konnte für die APTS-Schicht des Ballon-Materials kein konstanter Wert erhalten werden. Aufgrund der haptischen Eigenschaften und des Beschichtungsverfahrens in einem organischen Lösungsmittel ist es schwierig, gleichmäßig reproduzierbare Lagen von APTS zu erreichen. Trotz dieser Schwankungen kann für alle Proben eine gute Beschichtung erlangt werden. Beim Schlauch-Material beginnt der Verlauf der Auftragung der einzelnen Schichten mit dem Kontaktwinkel, der bei der APTS-Schicht bei ungefähr 66 ° liegt. Nach der vierten aufgetragenen Schicht pendeln sich die Kontaktwinkel langsam ein. Nach der Maskierung des Materials konnte für keine der Proben eine Korrelation zwischen dem zwitterionischen Anteil im Polykation und dem Kontaktwinkel festgestellt werden. Jedoch zeigt die Auftragung deutlich, dass sich das Enzym CDH als Polyanion eignet und sich gut in das alternierende Schichtsystem einfügt.

Um die Beständigkeit der Beschichtung zu untersuchen, wurden die Proben nach der Funktionalisierung für zehn Tage in synthetischem Urin und 0.01 M Azid-Lösung gelagert und

der Kontaktwinkel in regelmäßigen Abständen überprüft. Hierzu wurden sowohl das Enzym in der dritten als auch in der fünften Schicht getestet. Die Untersuchung erfolgte mit den Polykationen PTMAEMA-co-PSPE, deren zwitterionischer Anteil variiert wurde, und dem Polykation mit 25 % Zwitterion und 25 % Oktylrest. Die Ergebnisse dieser Messungen sind exemplarisch für das Ballon-Material in Abbildung 53 gezeigt. Für das Schlauch-Material befinden sich die Ergebnisse im Anhang.

Enzym CDH in der 3. Schicht:



Enzym CDH in der 5. Schicht:

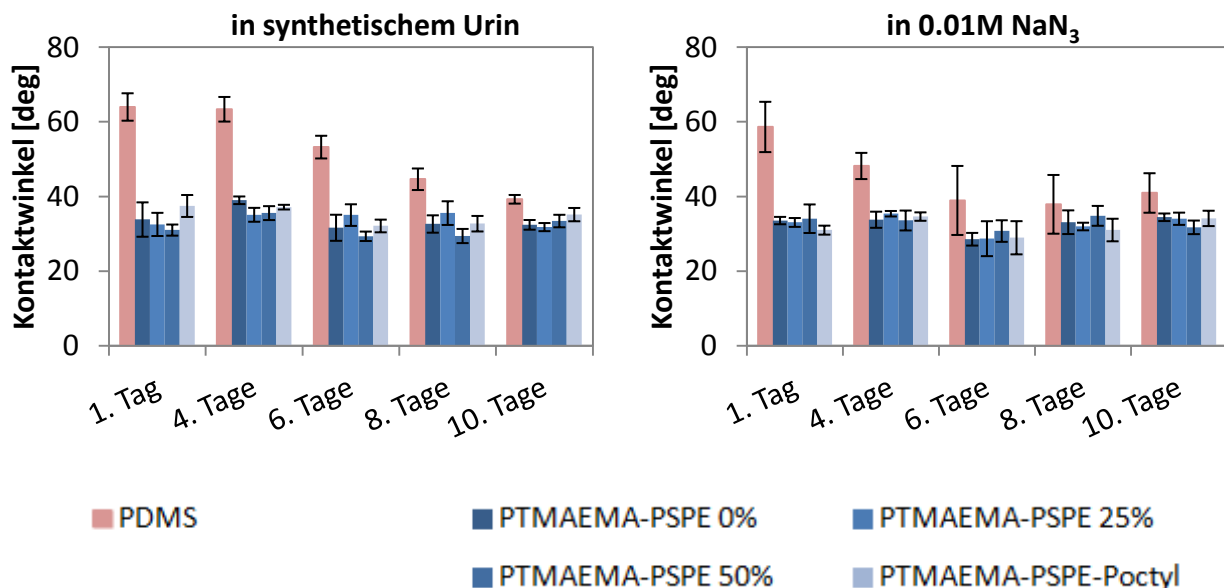


Abbildung 53: Kontaktwinkel-Langzeittest von Ballon-Material in synthetischen Urin und 0.01 M Azid-Lösung für das sechs-Schichten-System mit dem Enzyme CDH in der dritten oder fünften Schicht.

Aus den erhobenen Daten wird deutlich, dass die Lagerung sowohl in Azid-Lösung als auch in synthetischem Urin keine Auswirkungen auf die Beschichtung der Proben haben. Durch die längere Lagerung wurden keine nennenswerten Änderungen des Kontaktwinkels der modifizierten Proben und somit kein Verlust der Hydrophilie ersichtlich. Bei der Betrachtung der Referenzprobe hingegen wurde ein abnehmender Kontaktwinkel gemessen. Eine Korrelation zwischen den Kontaktwinkeln und dem verwendeten Polykation konnte auch bei dieser Messung nicht festgestellt werden. Auch die Addition eines Oktyl-Restes von 25 % scheint keine Auswirkung auf die Hydrophilie und Stabilität der Beschichtung zu haben. Insgesamt kann eine hydrophilere Oberfläche durch die Funktionalisierung mittels *Layer-by-Layer*-Technik erreicht werden.

5.4.3.2 Zeta-Potential Messungen

Die Immobilisierung des Enzymes CDH in das alternierende Schichtsystem als dritte oder fünfte Schicht wurde mittels Zeta-Potential-Messung untersucht. In Abbildung 54 ist das Zeta-Potential bei einem pH-Wert von 6.5 im Verlauf der alternierenden Beschichtung für das Ballon- und Schlauch-Material dargestellt.

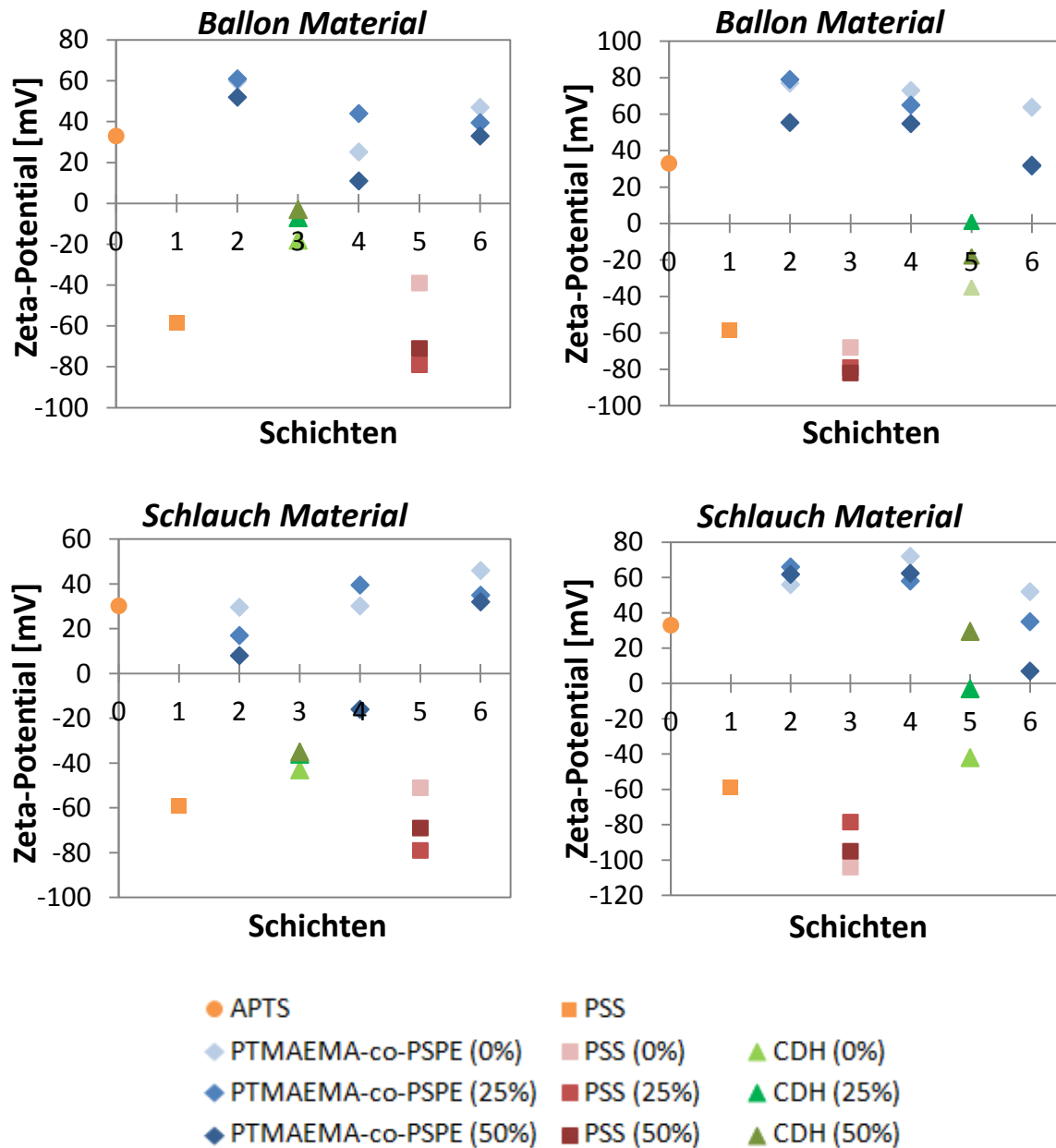


Abbildung 54: Auftragung der Zeta-Potentiale bei pH-Wert von 6.5 der verschiedenen *LbL*-Beschichtungen mit den verschiedenen Polykationen auf Ballon und Schlauch Material gegen die Schichtzahl mit Immobilisierung von dem Enzym CDH (grün) in der 3 oder 5 Schicht.

Aus der Abbildung wird ersichtlich, dass nach jeder Beschichtung das resultierende Oberflächenpotenzial bei einem pH-Wert von 6.5 ein umgekehrtes Potenzial aufweist. Dies gilt als Voraussetzung zur Adsorption weiterer Schichten. Im Vergleich zu den anionischen PSS-Schichten unterscheidet sich das Zeta-Potential des Enzyms CDH deutlich. Aufgrund der geringeren Ladungsdichte des Enzymes weist das Zeta-Potential im Gegensatz zur PSS-Schicht einen geringeren absoluten Wert auf. Die Abschwächung der Ladung beeinflusst

auch die darauf folgende kationische Schicht, sodass diese im Vergleich zu den anderen kationischen Messpunkten ein geringeres Potenzial aufweist. Hierbei fällt auf, dass für das Enzym CDH keine einheitlichen Zeta-Potentiale erhalten werden. Die Messungen zeigten, dass die Ladung des Polykations mit zwitterionischem Anteil durch das Enzym nicht so stark überkompensiert wird wie beim reinen PTMAEMA. Dies wird besonders bei den Zeta-Potentialen, bei denen sich das Enzym in der fünften Schicht befindet, deutlich. Mit zunehmendem zwitterionischen Anteil steigt das Zeta-Potential des Enzyms an. Die oszillierenden Auftragungen der Zeta-Potentiale der einzelnen Schritte weisen auf eine effektive Beschichtung hin. Wie bereits in Kapitel 5.4.2.2 beschrieben besteht auch bei dieser Messung eine Korrelation zwischen dem Zeta-Potential und dem verwendeten Polykation. Mit zunehmendem zwitterionischen Anteil im Polykation wird das Zeta-Potential geringer.

In Abbildung 55 ist der Vergleich der Zeta-Potentiale der sechsten Schicht mit und ohne Oktyl-Rest, welcher der letzten Schicht eine kontaktbiozide Wirkung verleihen soll, für den gesamten pH-Bereich von 3 bis 10 dargestellt.

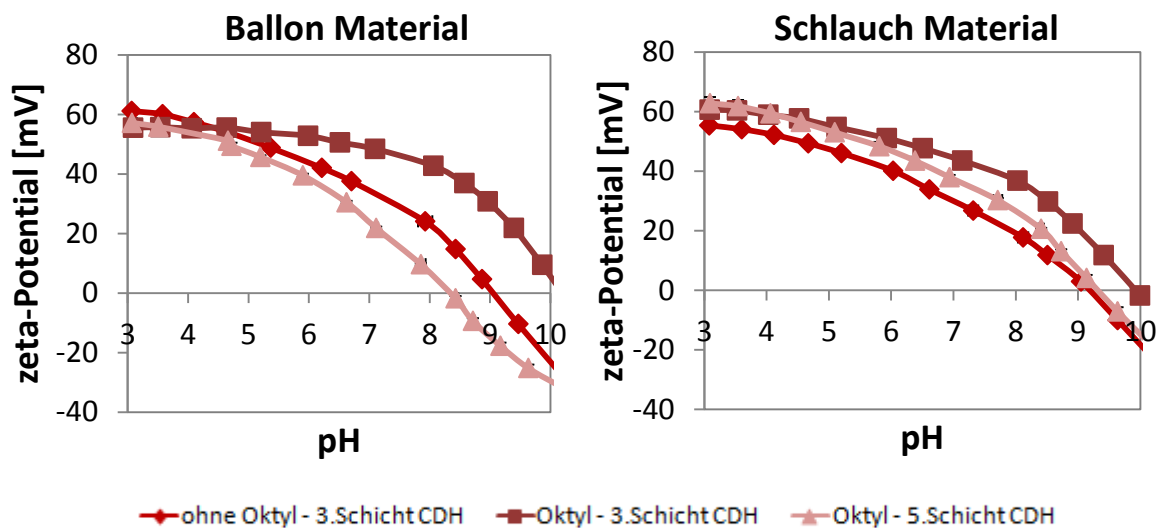


Abbildung 55: Zeta-Potential der 6-Schichten-System den Polykation mit 25 % zwitterionischen Anteil und der Variation mit 25 % Oktyl-Rest in Abhängigkeit von pH-Wert.

Aus den Zeta-Potential-Messungen geht hervor, dass für das Schlauch-Material die Addition von 25 % Oktyl-Rest in der letzten Schicht einen geringen Einfluss auf das Zeta-Potential besitzt. Mittels des Oktyl-Rests verschiebt sich der isoelektrische Punkt leicht in den basischen Bereich. Dies ist besonders auffällig bei der Messung des Schlauch-Materials mit

dem Enzym in der dritten Schicht. Beim Ballon-Material weicht diese Schicht ebenfalls weiter in den basischen Bereich ab als die Referenz-Messung. Die Messung mit Oktyl-Rest und Enzym in der fünften Schicht weicht hingegen in entgegengesetzter Richtung ab. Im sauren Bereich verhalten sich alle Messungen jedoch sehr ähnlich.

5.4.3.3 Enzymbestimmung mittels BCA Assay

Die Quantifizierung des immobilisierten Enzyms CDH erfolgte mittels des *BCA* Assays. Bei diesem handelt es sich um ein sehr störanfälliges Verfahren. Zu den komplexbildenden Substanzen gehört bekanntlich auch das Ammonium-Ion NH_4^+ . Durch die Vormodifizierung mit dem APTS entstehen primäre Ammoniumgruppen, welche die Quantifizierung des immobilisierten Enzyms erschweren. Aus diesem Grund wurde die Enzym-Immobilisierung nicht mit dem Basismaterial, sondern mit einer beschichteten Probe ohne Enzym-Immobilisierung, verglichen. Die Ergebnisse der Enzymdichte für die immobilisierten Enzyme und deren passende Blindwerte sind in Abbildung 56 für das Ballon- und Schlauch-Material dargestellt.

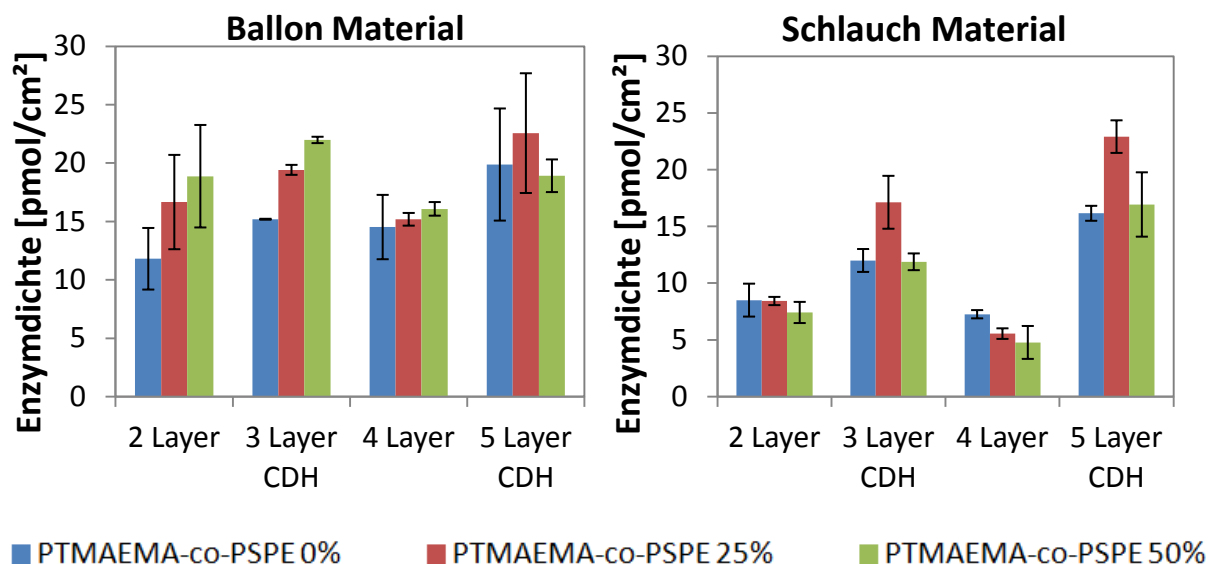


Abbildung 56: Ergebnisse des *BCA* Protein Assays. Menge an auf den Träger immobilisiertem Enzym CDH im Vergleich der unterschiedlichen Beschichtungen.

Aus der Abbildung wird die beschriebene Problematik ersichtlich. Für die Vergleichsproben ohne Enzym wurde bereits scheinbar eine hohe Enzymdichte ermittelt. In Relation der immobilisierten Proben zu den jeweiligen Blindwerten ist eine Enzymdichte messbar. Mit

einer Enzymdichte von 2.8 pmol/cm^2 bis 7.4 pmol/cm^2 ist die immobilisierte Menge an CDH Enzymen bei dem Ballon-Material deutlich kleiner als bei dem Schlauch-Material mit Dichten von 3.5 pmol/cm^2 bis 17.4 pmol/cm^2 . Des Weiteren fällt auf, dass sich mehr Enzyme auf der fünften Schicht adsorbiert haben als in der dritten Schicht.

5.4.3.4 Enzymaktivität

Die Enzymaktivität von CDH wird mittels der Amplex-Red-Reagenz und Fluoreszenzspektroskopie ermittelt. Als Kalibrationsstandard wurde Wasserstoffperoxid genommen und die Intensität des gebildeten Wasserstoffperoxids der Proben nach zweistündiger Inkubation in Konzentrationen umgerechnet. In Abbildung 57 sind die Wasserstoffperoxidentwicklungen der modifizierten Sechs-Schichtensysteme mit variiertem Polykation an dem Ballon-Material für zwei Stunden unter Berücksichtigung unterschiedlicher Trocknungsarten dargestellt. Hierbei erfolgte die Immobilisierung des Enzyms CDH sowohl in die dritte Schicht als auch in die fünfte Schicht des alternierenden Schichtsystems.

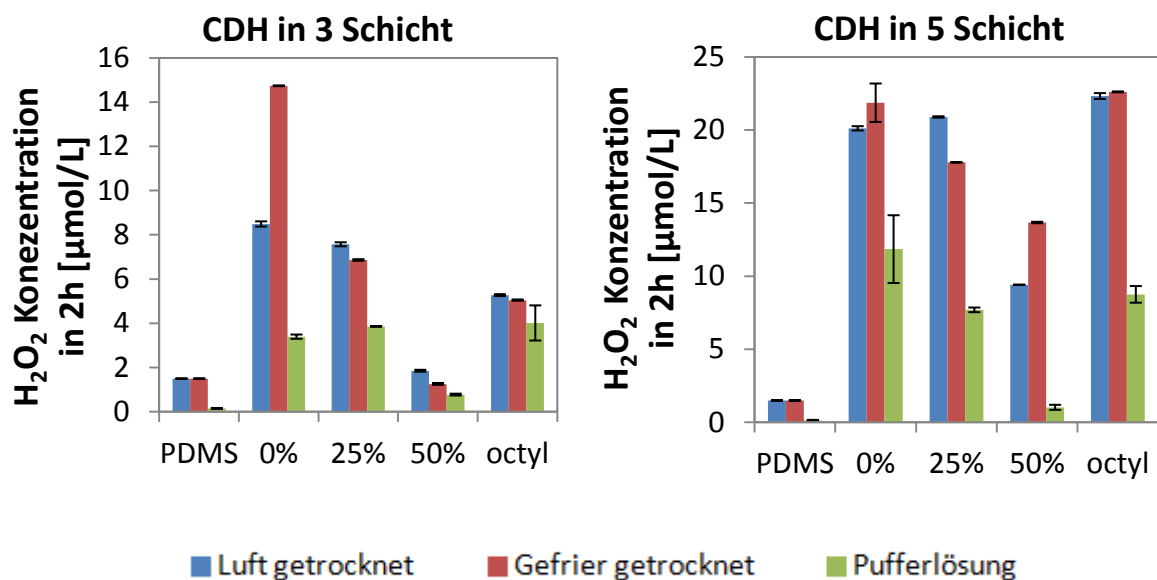


Abbildung 57: Wasserstoffperoxidentwicklung in zwei Stunden von modifizierten 6-Schichten-System mit variierten Polykationen an Ballon Material ermittelt mittels *Amplex Red* Assay.

Obwohl das Enzym in einem Mehrschichtsystem eingebettet wurde, konnte bei jeder Probe eine Aktivität des Enzyms CDH gemessen werden. Für das immobilisierte Enzym in der

fünften Schicht wurde eine deutlich höhere Enzymaktivität im Gegensatz zur Immobilisation des Enzymes in der dritten Schicht ermittelt. Weiterhin wurde bei allen Proben deutlich, dass die trocken gelagerten Proben höhere Enzymaktivitäten aufweisen, als die in Pufferlösung gelagerten Proben. Einen weiteren signifikanten Einfluss auf die Enzymaktivität der Proben stellte die Verwendung unterschiedlicher Polykationen dar. Durch eine Erhöhung des zwitterionischen Anteils im mehrschichtigen System sinkt die gemessene Wasserstoffperoxidkonzentration deutlich ab. Der Oktyl-Rest hingegen scheint keinen weiteren Einfluss auf die Aktivität zu besitzen.

Des Weiteren erfolgten die gleichen Messungen mit dem Schlauch-Material, wie in Abbildung 58 gezeigt wird.

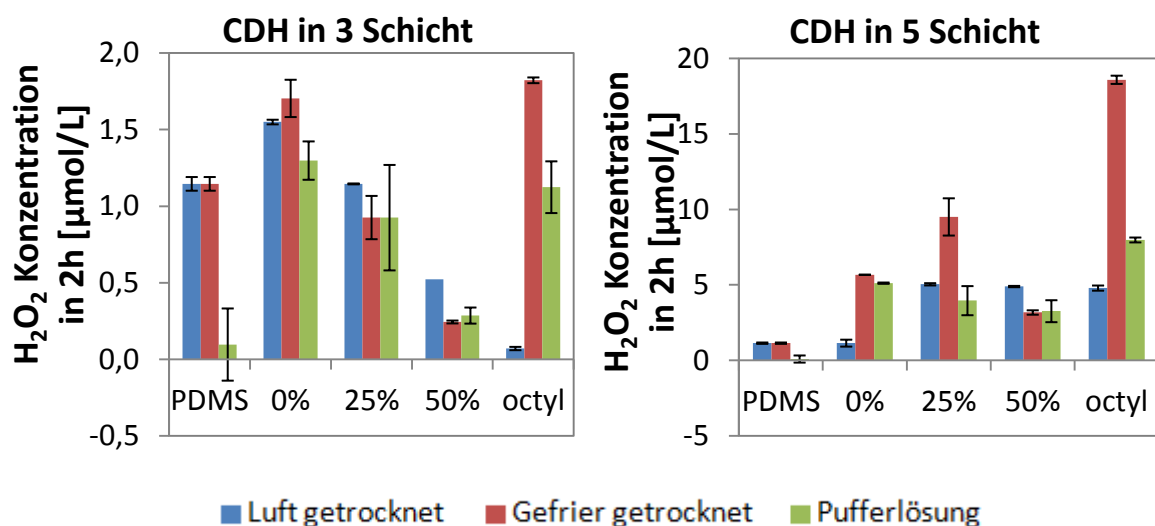


Abbildung 58: Wasserstoffperoxidentwicklung in zwei Stunden von modifizierten 6-Schichten-System mit varierten Polykationen an Schlauch Material ermittelt mittels Apex Red Assay.

Die auf dem Schlauch-Material immobilisierten Enzyme zeigen eine deutlich geringere Wasserstoffperoxidkonzentration nach zweistündiger Inkubation auf als bei der gleichen Beschichtung auf dem Ballon-Material als Trägermaterial. Wie schon beim Ballon-Material beobachtet, nimmt die Enzymaktivität mit der Anzahl weiterer folgender Polymerschichten ab. So konnten auch hier mit dem Enzym in der fünften Schicht deutlich höhere Enzymaktivitäten als in der dritten Schicht gemessen werden. Die Absolutwerte für die Immobilisierung des Enzymes in der dritten Schicht sind um den Faktor 10 geringer. Bei dieser Beschichtung fällt der besonders hohe Blindwert für die trockengelagerten Proben auf. Diese weisen teilweise eine höhere Bildung von Wasserstoffperoxid auf, als die Proben mit CDH.

Für die Proben in Pufferlösung konnten jedoch höhere Enzymaktivitäten der beschichteten Proben ermittelt werden. Dennoch besteht auch beim Schlauch-Material eine Korrelation zwischen den verwendeten Polykationen und der Wasserstoffperoxidkonzentration. Je mehr Zwitterionen sich in der Umgebung des Enzyms befinden, desto niedriger ist ihre Aktivität. Die Messungen der in der fünften Schicht immobilisierten CDH weichen von dem zuvor analysierten Trend deutlich ab-mit Ausnahme der in Pufferlösung vermessenen Proben. Die höchsten Enzymaktivitäten konnten beim Schlauch-Material mit den gefriergetrockneten Proben mit Oktyl-Rest erreicht werden.

Die ermittelten Aktivitäten der Enzyme lassen auf die quantitative Menge der aktiv auf der Oberfläche immobilisierten Enzyme schließen. Das Enzym CDH produziert im freien Zustand 21.2 nmol H₂O₂/min mg. Die kalkulierten Mengen an immobilisiertem Enzym sind in Tabelle 8 dargelegt.

Tabelle 8: Menge an auf dem Träger immobilisiertem Enzym CDH, berechnet aus der Wasserstoffperoxidentwicklung der Proben.

Modifizierung		Ballon Material [pmol/cm ²]	Schlauch Material [pmol/cm ²]
Base Material		1.0 ± 0.15	0.68 ± 1.7
CDH in 3 Schicht	PTMAEMA-co-PSPE 0%	23.9 ± 0.6	9.2 ± 0.9
	PTMAEMA-co-PSPE 25%	27.2 ± 0.1	6.5 ± 2.4
	PTMAEMA-co-PSPE 50%	5.4 ± 0.3	2.0 ± 0.4
	PTMAEMA-co-PSPE Oktyl	28.3 ± 5.6	7.9 ± 1.2
CDH in 5 Schicht	PTMAEMA-co-PSPE 0%	83.5 ± 16.4	36.1 ± 0.3
	PTMAEMA-co-PSPE 25%	54.2 ± 1.1	27.9 ± 6.8
	PTMAEMA-co-PSPE 50%	7.2 ± 1.2	23.0 ± 5.1
	PTMAEMA-co-PSPE Oktyl	61.7 ± 4.0	56.3 ± 1.1

Hierbei handelt es sich lediglich um die immobilisierte Menge an CDH, welche eine Aktivität aufweisen.

5.4.3.5 Biofouling Messungen

Mit Hilfe des Kristallviolett-Tests wurde die quantitative Bestimmung der Biofilmbildung durch *Staphylococcus aureus* durchgeführt. Hierbei erfolgte ein Vergleich der verschiedenen Beschichtungen. Diese unterscheiden sich durch die Variierung der verwendeten Polykationen und durch die Einbettung des Enzyms CDH in der dritten oder fünften Schicht. Für diese Proben wurde zusätzlich die Trocknungsart variiert. Die Ergebnisse des quantitativen Wachstums sind für das Ballon-Material im Vergleich zum unmodifizierten Material in Abbildung 59 dargestellt.

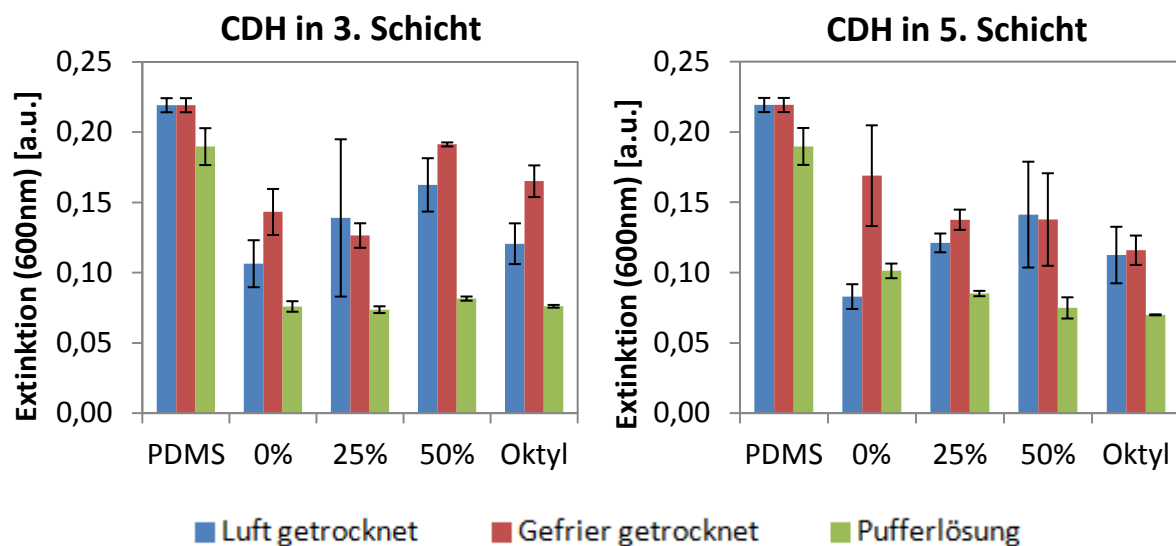


Abbildung 59: Biofilm Formation Messung von 6-Schichten modifizierten Ballon-Material im Vergleich zu dem Basis Material mit variierten Polykationen und in 3 oder 5 Schicht immobilisierten Enzym.

Im Vergleich zu dem unmodifizierten Ballon-Material wurde das Biofilm-Wachstum durch die Beschichtung deutlich reduziert. Aus den Ergebnissen wird ersichtlich, dass die Lagerung der beschichteten Proben großen Einfluss auf das Biofilm-Wachstum besitzt. Den besten Schutz gegen Biofilmbildung lieferten hier die Proben, welche in Pufferlösung gelagert wurden. Diese wiesen eine Reduzierung von 47 % bis 63 % der totalen Biomasse auf. Im Vergleich hierzu zeigten die getrockneten Proben ein deutlich höheres Biofilm-Wachstum auf. Mit zunehmendem zwitterionischen Anteil, mit Ausnahme der Probe mit 0 % zwitterionischem Anteil und Enzym in der fünften Schicht, steigt das Biofilm-Wachstum an. Die Korrelation zwischen dem zwitterionischen Anteil und dem Biofilm-Wachstum ist bei der Messung mit

Enzym in der fünften Schicht schwächer ausgeprägt. Dies lässt durchaus auf eine erhöhte Aktivität des Enzyms in der fünften Schicht schließen.

Im Weiteren folgen die gleichen Messungen an dem Schlauchmaterial, welche in Abbildung 60 dargelegt sind.

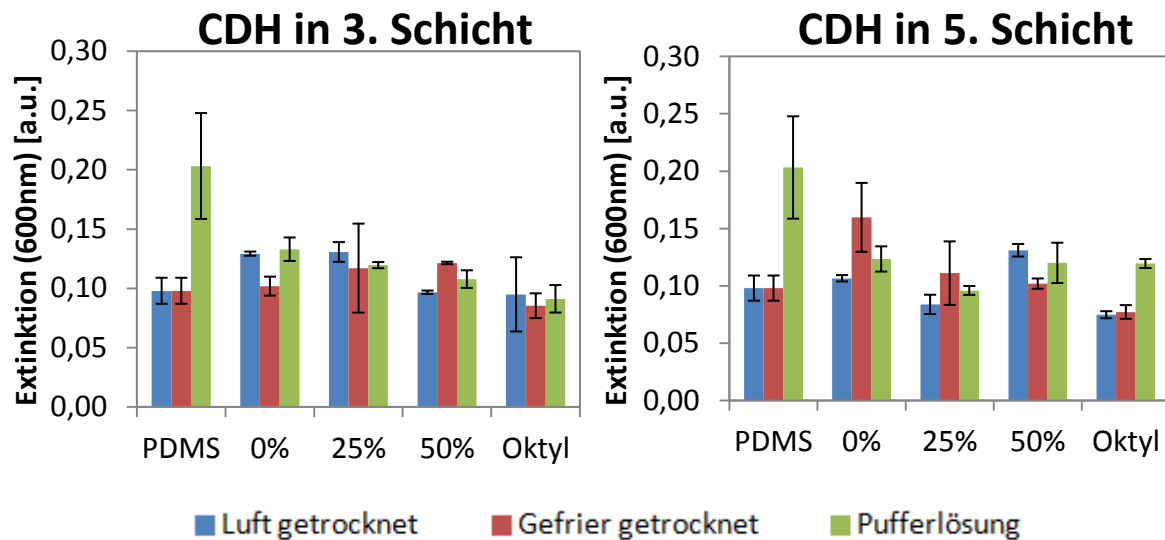


Abbildung 60: Biofilm Formation Messung von 6-Schichten modifizierten Schlauch-Material im Vergleich zu dem Basis Material mit variierten Polykationen und in 3 oder 5 Schicht immobilisierten Enzym.

Wie auch beim Ballon-Material weisen die Proben, welche in Pufferlösung gelagert wurden, die stärkste Reduzierung des Biofilm-Wachstums auf. Das Biofilm-Wachstum konnte bei diesen Proben um die Hälfte reduziert werden. Hierbei scheint der zwitterionische Anteil in der Beschichtung einen positiven Einfluss auf das Biofilm-Wachstum zu haben. Die getrockneten Proben zeigen jedoch keine Verbesserung der Antifouling-Eigenschaften auf. Teilweise wurde auf den Proben deutlich mehr Biofilm-Wachstum als auf den unmodifizierten Proben ermittelt. Jedoch fällt die gemessene Extinktion der Referenzprobe für die nasse Probe fast doppelt so hoch aus wie für die trockene Probe. Der Vergleich der Referenzproben des Ballon-Materials zeigt deutlich, dass die gemessenen Extinktionen beider Proben recht ähnlich auf die Biofilmbildung reagieren.

5.4.3.6 Zellvitalität Messungen

Mit Hilfe der Lebend/Tot-Färbung (oder auch *LIVE/DEAD*-Messung genannt) wurde die Wirkung des Beschichtungsverfahrens auf Bakterien bestimmt. Durch Markierung der

Mikroorganismen mit spezifischen Farbstoffen ist eine Unterscheidung zwischen lebenden und toten Mikroorganismen möglich. Hierfür wurden die Proben in einer *Staphylococcus aureus* Zellsuspension für drei Stunden inkubiert. Die adhärenierten Bakterien wurden anschließend mittels der *LIVE/DEAD*-Fluoreszenz-Färbung eingefärbt und unter dem konfokalen *Laser-Scanning*-Mikroskop (CLSM) die Oberfläche betrachtet. Lebende Mikroorganismen mit einem intakten Stoffwechsel erscheinen im CLSM grün, wohingegen tote Mikroorganismen bei der Anregung des Farbstoffes im CLSM in der Farbe Rot quantifiziert werden können. Durch Überlagerung der beiden Farben kann die Probe auch gelb fluoreszieren.

In Abbildung 61 sind die CLSM-Bilder eines Schlauch-Materials, welches mit einem Sechsschichtensystem unter Verwendung von Polykationen mit variiertem zwitterionischen Anteil (von 0 %, 25 %, 50 % oder 25 % plus 25 % Oktylrest) funktionalisiert wurde, im Vergleich zu unmodifiziertem Kathetermaterial dargestellt. Bei den modifizierten Proben handelt es sich um luftgetrocknete Proben, in denen das Enzym CDH in der dritten Schicht immobilisiert ist.

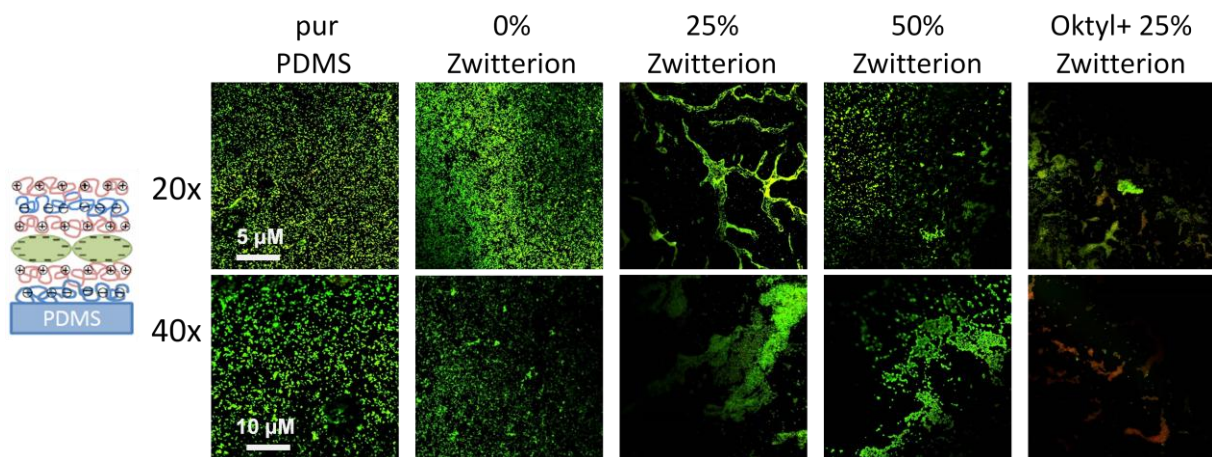


Abbildung 61: CLSM-Bilder von Schlauch-Materialien nach verschiedener *LbL*-Beschichtungen mit sechs Schichten, die in jede dritte Schicht das Enzym CDH immobilisiert hat und unter Verwendung von Polykationen mit zwitterionischen Anteil von 0%, 25%, 50% und 25% plus 25% Oktylrest, an der Luft getrocknet. Als Referenz dient eine unmodifizierte Kathetermaterial Probe.

Bei der Referenzprobe sind einzelne Kolonien zu erkennen, welche sehr gleichmäßig und dicht verteilt sind und beinahe einen Film bilden. Auch die Probe mit der Beschichtung ohne zwitterionischen Anteil weist eine sehr gleichmäßige Verteilung von dicht besiedelten einzelnen Kolonien auf. Die CLSM-Aufnahmen der Probe mit 25 % zwitterionischem Anteil im

verwendeten Polykation zeigen größere Cluster auf. Jedoch legt vor allem die um das 20fache vergrößerte Aufnahme eine Flussarm-ähnliche Struktur dar. Die Probe mit 50 % zwitterionischem Anteil im Polykation weist ungleichmäßige, teilweise clusterartig adhärierte Bakterien auf, worunter auch einige tote Bakterien zu erkennen sind. Die CLSM-Aufnahme der Beschichtung mit dem Polykation mit 25 % zwitterionischem Anteil zuzüglich 25 % Oktyl-Rest weist ebenfalls Cluster auf, jedoch mit einer beträchtlichen Menge an toten Bakterien. Die Proben mit zwitterionischem Anteil zeigen jeweils eine unregelmäßige Clusterbildung, weisen aber generell ein wesentlich weniger starkes Wachstum auf.

In Abbildung 62 sind die Ergebnisse der Lebend/Tot-Färbung der Funktionalisierung des Schlauch-Materials im Vergleich dargestellt. Unterschieden wird hierbei die Trocknungsart (gefriergetrocknet oder in Pufferlösung gelagert), die Variierung der Polykationen sowie die Einbettung des Enzyms CDH in dritter oder fünfter Schicht.

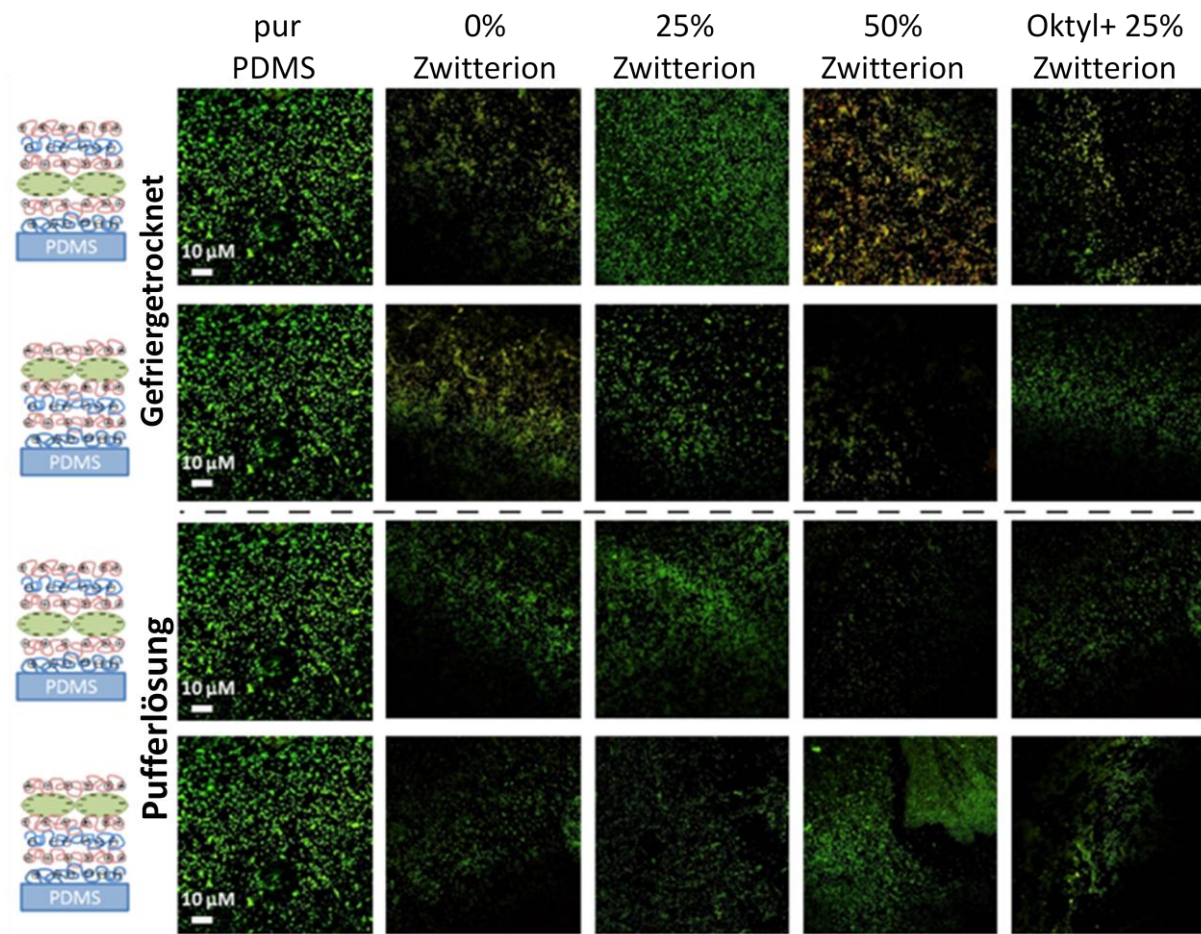


Abbildung 62: CLSM-Bilder von Schlauch Material (PDMS) nach verschiedenen *LbL* Beschichtungen mit sechs Schichten, in der CDH in jeder dritten oder fünften Schicht immobilisiert ist und unter Verwendung von Polykationen mit einem Anteil von zwitterionischen Gruppen von 0%, 25%, 50% und 25% plus 25% Oktylrest.

Die Referenzprobe wies auch hier eine homogene Verteilung einzelner Kolonien auf, welche recht dicht beieinander lagen. Bis auf die Probe mit Enzym CDH in dritter Schicht und Polykation mit 25 % zwitterionischem Anteil zeigten alle Proben ein geringeres Wachstum. Die meisten Proben wiesen eine isolierte Clusterbildung auf, welche nicht gleichmäßig über die Oberfläche verteilt ist. An die Probe mit 25 % zwitterionischem Anteil adhärten bei diesen Messungen die meisten Bakterien. Die besten Ergebnisse wurden mit dem Polykation mit 50 % zwitterionischem Anteil ermittelt. Die Messungen zeigten, dass kein Unterschied hinsichtlich der Anzahl der adhärten Bakterien durch die Enzymeinbettung in die dritte oder fünfte Schicht erreicht werden konnte. Eine Enzymaktivität konnte bei den

gefriergetrockneten Proben festgestellt werden. Auf der Probe mit Oktyl-Rest konnte kein zusätzlicher Effekt beobachtet werden.

Ebenso wurden die Untersuchungen auf dem Ballon-Material durchgeführt. Abbildung 63 zeigt die Verteilung lebender und toter Bakterien, welche direkt an der Oberfläche adhärieren.

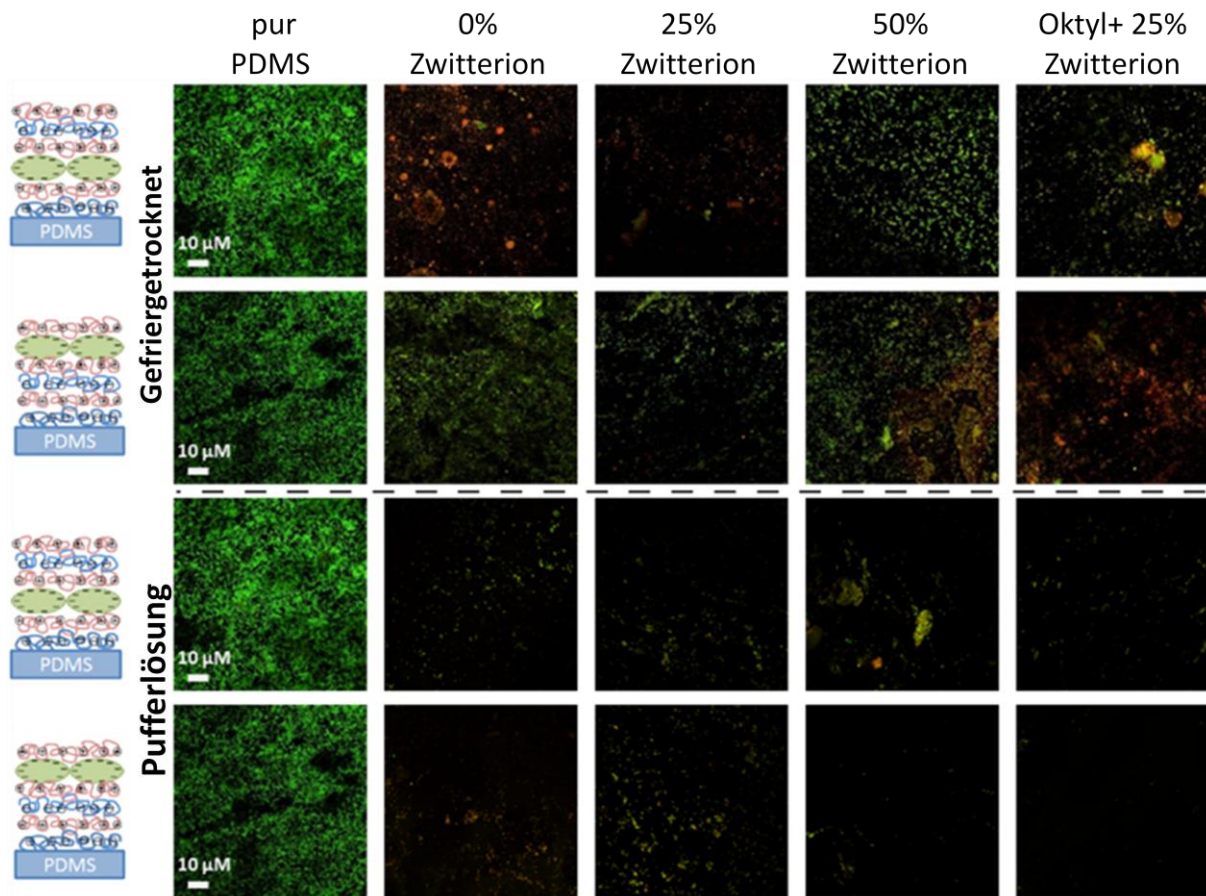


Abbildung 63: CLSM-Bilder von Ballon-Material (PDMS) nach verschiedenen LbL Beschichtungen mit sechs Schichten, in der CDH in jeder dritten oder fünften Schicht immobilisiert ist und unter Verwendung von Polykationen mit einem Anteil von zwitterionischen Gruppen von 0%, 25%, 50% und 25% plus 25% Oktylrest.

Auf den CLSM-Aufnahmen des unbeschichteten Ballon-Materials ließ sich eine sehr dichte, gleichmäßige Verteilung einzelner Kolonien beobachten. Im Vergleich dazu wurde der Bakterienbewuchs bei den meisten Proben drastisch reduziert. Die gefriergetrockneten Proben zeigten kleine Cluster von lebenden Zellen und eine ganze Reihe an toten Zellen auf. Die besten Ergebnisse konnten hier mit dem Polymer mit 25 % zwitterionischem Polykation erhalten werden. Weiterhin besaß die Probe mit Oktyl-Rest mehr Cluster an toten Bakterien.

Die Proben in der Pufferlösung zeigten einen weitaus besseren Antifouling-Effekt auf. Auf diesen wuchsen lediglich einzelne isolierte Bakterien. Die Einbettung der Enzyme scheint einen Einfluss auf ihre Aktivität zu besitzen. Eine höhere Anzahl an toten Bakterien wurde durch die Einbettung des Enzyms in die fünfte Schicht festgestellt. Auch durch die Einführung der Zwitterionen QAC-Gruppen konnte eine Verbesserung erreicht werden.

6 Diskussion der Ergebnisse

6.1 Charakterisierung des Silikon

Die in dieser Arbeit verwendeten Kathetermaterialien bestehen aus zwei verschiedenen elastischen Silikonem. Aufgrund der Tatsache, dass der Hersteller Degania Silicone (Emek Hayardi, Israel) keine genauen Angaben zum Material herausgibt, wurden zu Beginn dieser Arbeit die Materialien charakterisiert. Laut Hersteller handelt es sich um ein Polydimethyl/vinylmethylosilan.

Durch die Quellung der Polymere mit den unterschiedlichsten Lösungsmitteln erhöht sich das Volumen des Polymers. Mit steigendem Vernetzungsgrad kann sich das Polymer weniger weit ausbreiten, weshalb die Quellung durch das zur Verfügung stehende Volumen zusätzlich begrenzt ist. Es stellt sich ein Gleichgewicht zwischen den Wechselwirkungen des Materials mit dem Lösungsmittel und dem zur Verfügung stehenden Platz ein. Das Ballon- und Schlauch-Material zeigten gleiche Quellungsverhalten in den unterschiedlichen Lösungsmitteln. Dies jedoch mit unterschiedlich starkem Quellungsgrad (siehe Abbildung 25). Dieser Faktor und die Elastizität der Materialien lassen darauf schließen, dass der Vernetzungsgrad beim Ballon-Material weitaus geringer ausfällt als beim Schlauch-Material. Dies bestätigt sich durch die Rheologie Messungen. Die ermittelte Vernetzungsdichte des Ballon-Materials fällt um die Hälfte geringer aus als jene des Schlauch-Materials (siehe Abbildung 27). In Bezug zu den unterschiedlichen getesteten Lösungsmitteln korrelieren die Ergebnisse der Rheologie Messung mit den Quellungsdaten. Bei den Lösungsmitteln Ethanol, DMF und Wasser quillt das PDMS-Material kaum, was sich auch in der geringen Maschenweite und der hohen Vernetzungsdichte der Rheologie Messungen widerspiegelt. Größere Maschenweiten werden für die Lösungsmittel Chloroform, THF, Hexan und Toluol erreicht, bei welchen der Quellungsgrad der gemessenen Lösungsmittel ebenfalls am höchsten ausfiel.

Weiterhin wurden die Lösungsmittelparameter nach Hansen ermittelt. Dies ist von Interesse, um diverse Eigenschaften des Polymers abschätzen zu können. Hansen zerlegt die Löslichkeitsparameter in die folgenden drei Beiträge: die Dispersionskraft (D), die dipolaren

Wechselwirkungen (P) und die Wasserstoffbrückenbindungen (H). Polymere lösen sich in der Regel in Lösungsmitteln, deren Löslichkeitsparameter ähnlich mit dem Polymer sind. Je besser die Löslichkeitsparameter übereinstimmen, desto stärker quillt das Polymer. Die Löslichkeitsparameter des PDMS wurden empirisch aus den Quelldaten bestimmt. Hierfür wurde die kommerziell erhältliche HSPiP-Software (Version 3.1.19) verwendet. Dafür wurden die erhaltenen Quelldaten bewertet (siehe Anhang: Tabelle 11). Hierbei scheint gerade der Parameter der Wasserstoffbrückenbindungen die Quellung merklich zu beeinflussen. Diese sind besonders hoch bei Wasser, Ethanol, *iso*-Propanol und DMF, in welchen das PDMS wenig bis gar nicht quillt. In Abbildung 64 ist das ermittelte 3-dimensionale Lösungsmittelprofil des verwendeten PDMS-Materials dargestellt. Das PDMS wurde mit den Parametern für Dispersion von 17.3, Polarität von 4.4 und Wasserstoffbrückenbindungen von 5.1 kalkuliert. Diese Daten liegen nahe an den Werten, welche die HSPiP-Software selbst für PDMS aus eigenen Quellungsrechnungen vorgibt. So wird hier von einer Dispersion von 17, Polarität von 2.9 und Wasserstoffbrückenbindungen von 2.6 ausgegangen. Bei der direkten Berechnung der Hansen-Parameter mit Hilfe der HSPiP-Software wird die „Yamamoto-Molecular Breaking“-Methode mit 8 Inkrementen eingesetzt. Diese Methode kalkuliert die Hansenparameter anhand bekannten Werten der vorhandenen Moleküle und funktionellen Gruppe des zu berechnendem Moleküls. Jedoch ist die Software auf 8 Inkremente beschränkt. Es ergeben sich für die Dispersion ein Wert von 11.7, für die Polarität ein Wert von 0.7 und für die Wasserstoffbrückenbindungen ein Wert von 0.4. In Tabelle 9 sind die drei unterschiedlichen Datensätze tabellarisch dargestellt.

Tabelle 9: Unterschiedliche Hansen-Parameter für PDMS

Hansenparameter für in [MPa ^{0.5}]	Dispersion	Polarität	Wasserstoffbrückenbindungen
PDMS (aus eigenes Quellungsexperiment)	17.3	4.4	5.1
PDMS (aus HSPiP-Quellungsexperiment)	17	2.9	2.6
PDMS (kalkuliert mit HSPiP-Software)	11.7	0.7	0.4

Da die Lösungsmittelaufnahme jedoch von der Vernetzungsdichte des Polymernetzwerkes abhängt, kann das Quellungsverhalten erheblich variieren. Dabei besteht eine große Abhängigkeit von den Siloxan Reagenzien, die verwendet wurden, und den Aushärtungsbedingungen¹³⁷.

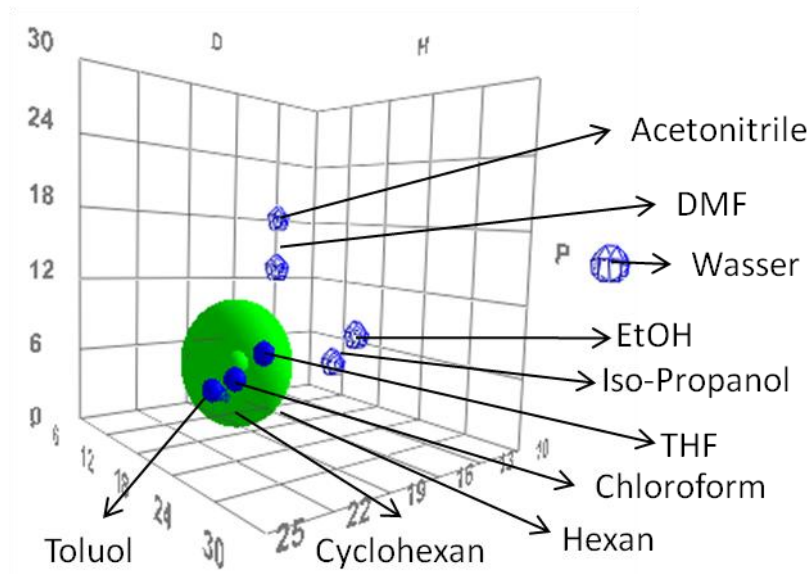


Abbildung 64: Hansen-Parameter von PDMS Schlauch Material, berechnet aus den Quelldaten (blau ausgefüllte Kugeln liegen im Löslichkeitsbereich von PDMS, während die anderen außerhalb des Löslichkeitsbereiches liegen).

Mittels der Rheologie Ergebnisse konnte deutlich veranschaulicht werden, dass das Schlauch-Material stärker vernetzt ist als das Ballon-Material. Während im ungequollenen Zustand die mittlere Maschenweite mit 1.4 nm für Schlauch-Material und 1.9 nm für Ballon-Material noch recht nah beieinander liegen (siehe Abbildung 26), weist die mittlere Vernetzungsdichte im gequollenen Zustand einen deutlichen Unterschied zwischen den beiden Materialien auf (siehe Abbildung 27). Der elastische Anteil des Ballon-Materials ist um mehr als das Doppelte größer als beim Schlauch-Material. Diese Elastizität des Ballon-Materials ist wichtig für dessen Funktion im Katheter. Der Ballon muss sich zur Verankerung des Katheters leicht dehnen lassen können. Das Schlauch-Material braucht hingegen einen gewissen Grad der Festigkeit. Um die Festigkeit des PDMS zu erhöhen, sind in der Regel noch Füllstoffe, wie typischerweise Siliciumdioxid (SiO_2), enthalten. SiO_2 kann über Wasserstoffbrückenbindungen physikalische Netzpunkte mit den PDMS-Ketten eingehen

und sorgt somit für eine Verbesserung der mechanischen Festigkeit des Materials. Ohne SiO_2 sind die Silikon-Elastomere sehr klebrig. Mit Hilfe der thermogravimetrischen Bestimmung sollte versucht werden, Rückschlüsse über den Siliciumdioxid-Gehalt zu ziehen. Die TGA zeigte einen höheren Massenverlust für das Schlauch-Material auf (siehe Abbildung 28). Dies könnte zum einen an dem Verhältnis des Dimethylsiloxan zu Vinylmethylsiloxan liegen. Zum anderen könnte dies auf einen geringeren Füllstoffanteil von SiO_2 deuten¹³⁸. Jedoch weisen die haptischen Eigenschaften des Materials auf einen höheren Anteil des SiO_2 im Schlauch-Material hin. Dies konnte durch die AFM-Messungen des Basismaterials bestätigt werden. Die Aufnahme der Topographie des Ballon-Materials war aufgrund der Klebrigkeit der Probe erschwert. Aufgrund der regelmäßigen Anhaftung der Sondenspitze an der Oberfläche konnte beim Ballon-Material lediglich eine verschwommene AFM-Aufnahme gemessen werden (siehe Abbildung 51a). Die Topographie des Schlauch-Materials konnte mit einer besseren Auflösung gemessen werden (siehe Abbildung 48a). Da SiO_2 die Härte des Materials beeinflusst, kann beim Schlauch-Material von einem höheren Anteil an SiO_2 ausgegangen werden. Weiterhin ist nicht bekannt, ob noch geringe Mengen an Katalysatoren im Silikon enthalten sind, die möglicherweise Einfluss auf die thermische Zersetzung der Probe besitzen. Somit könnten der Anteil des Abbauprodukte wie Siliciumdioxid oder Siliciumcarbid bei den beiden Proben unterschiedlich ausfallen. Eine genaue Bestimmung der Siliciumdioxid-Füllstoffe für diese Proben war somit nicht möglich.

Bei der Kontaktwinkel-Messung des Langzeit-Tests in 0.01 M wässriger Azid-Lösung oder in synthetischem Urin steigt die Hydrophilie für beide unmodifizierten Proben an (siehe Abbildung 35). Aufgrund der Hydrophobie und der niedrigen Glasübergangstemperatur von PDMS können sich durch Kontakt mit Wasser die Polymerketten über die Zeit neu anordnen, sodass die Grenzflächenenergie minimiert wird. Diese Tatsache könnte die Begründung für die Veränderung des Materials in wässriger Umgebung sein. Wie in Abbildung 65 schematisch dargestellt wird, könnten sich mit der Zeit die PDMS-Ketten so organisieren, dass die SiO_2 -Partikel zur Oberfläche wandern.

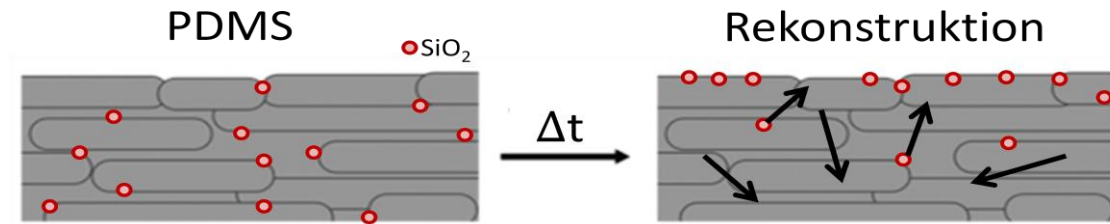


Abbildung 65: Schematische Darstellung der Rekonstruktion von unmodifizierten PDMS über einen gewissen Zeitraum (Δt) in Wasser; bei der Silicapartikel zur wässrigen Oberfläche des Materials wandern.

Die Rekonstruktion von PDMS ist ein bekanntes Problem der Oberflächenmodifikation¹³⁹. Durch eine Oxidation der Oberfläche wird beispielsweise nur eine kurzzeitig hydrophile Oberfläche erreicht, bis sich die Oberfläche wieder neu konstruiert hat und in den hydrophoben, unbehandelten Zustand zurückkehrt. Auch das viel untersuchte Poly(ethylenglycol) (PEG) weist als Antifouling Funktionalisierung nicht die gewünschte Stabilität auf. Obwohl das PEG zu den hydrophilen Polymeren gehört, ist es auch in nicht-polaren Lösungsmitteln wie Dichlormethan und Toluol löslich. Durch die Aussetzung der beschichteten Probe an Luft kann es zu einer Migration des PDMS an die Oberfläche kommen. Dieser Prozess senkt die freie Oberflächenenergie^{140,141}. Effektiver scheint hier die Funktionalisierung mittels zwitterionischer Polymere zu sein. Aufgrund der starken elektrostatisch induzierten Hydratisierung und der extrem schlechten Löslichkeit in organischem Medium ist die Umlagerung der Oberfläche in wässrigen Lösungsmitteln oder während/nach der Trocknung an der Luft sehr ungünstig. Ferner weisen zwitterionische Polymere starke Ketten-Ketten-Wechselwirkungen durch ionische Bindungen auf, wodurch das System zusätzlich stabilisiert wird.

6.2 Polymersynthese

6.2.1 Synthese von amphiphilen Diblock-Copolymeren PDMS-*b*-PSPE

Zur Herstellung des amphiphilen Diblock-Copolymers wurde im ersten Schritt mittels Veresterung ein PDMS-Makroinitiator für die radikalische Polymerisationen erfolgreich synthetisiert. Die darauf folgende ATRP des Monomers DMAEMA wurde an den Makroinitiator angepasst, sodass kontrolliert maßgeschneiderte Polymere synthetisiert

werden konnten. Die Umsatz-Zeit-Kurve zeigte, dass die ATRP eine schnelle Initiierung und ein gleichmäßiges Wachstum aufwies (siehe Abbildung 29). Die Polymerisation ließ sich gut reproduzieren. Durch die Veränderung der Monomer-Stoffmenge konnte die molare Masse gut eingestellt werden, wie mittels der ^1H -NMR-Spektroskopie festgestellt werden konnte. Zur Bestimmung der molaren Masse und der Polydispersität der unterschiedlichen Polymere PDMS-*b*-PDMAEMA wurde die Gelpermeationschromatographie herangezogen. Im Vergleich zu den mittels ^1H -NMR-Spektroskopie ermittelten molaren Massen waren die Ergebnisse der GPC deutlich größer (siehe Tabelle 4). Dies könnte an der Bildung von Mizellen des Polymers in dem GPC-Eluenten liegen. Zur Kontrolle wurde die CMC des Diblockcopolymers PDMS-*b*-PDMAEMA₃₀ in DMF vermessen (siehe Abbildung 30). Die wichtigsten Faktoren zur Ausbildung von Mizellen sind dabei die Polymerkonzentration in der Lösung, die Art des Lösungsmittels und die Zusammensetzung des Diblockcopolymers¹⁴². Abhängig von den einzelnen Blocklängen des amphiphilen Diblockcopolymers lassen sich unterschiedliche Mizelltypen beschreiben. Die sogenannten „sternförmigen“ Mizellen entstehen, wenn die Länge des löslichen Blockes wesentlich länger ist als die des unlöslichen Blockes¹⁴³. Bei dem Polymer PDMS-*b*-PDMAEMA₃₀ beträgt der lösliche Anteil PDMAEMA 80 % des gesamten Polymers. PDMS hingegen ist sowohl in DMF als auch in Wasser unlöslich, sodass dies den Kern der Mizelle bildet. Aufgrund der Unverträglichkeit der beiden Blöcke bilden sich sehr stabile Mizellen. Hierbei konnte gezeigt werden, dass die kritische Mizellbildungskonzentration des Polymers in DMF zwischen 1 g/L und 5 g/L liegt. Für die GPC-Analyse wurde eine Konzentration von 4 g/L verwendet. Somit könnten die Polymere bei der Messung als Mizellen vorliegen und somit die Ergebnisse stark beeinflussen. Für die GPC wurde zusätzlich das DMF mit 0.01 M Lithiumbromid versetzt. Lithiumbromid erhöht die Polarität des DMF, was zu einer Herabsenkung des CMC führen könnte. Durch die GPC konnte eine Polydispersität von 1.4 und somit eine enge Molmassenverteilung festgestellt werden.

Im Weiteren folgte die Betainisierung zu Zwitterionen, welche dem Polymer die Antifouling Eigenschaften verleihen. Die Umsetzung erfolgte ausschließlich an den Stickstoff-Atomen der DMAEMA-Einheiten im Polymer. Das mittels Elementaranalyse kalkulierte Verhältnis zwischen dem Schwefel- und dem Stickstoffgehalt im Polymer deutet darauf hin, dass bei fast allen Reaktionen eine 100 % Quarternierung mittels 1,3-Propansulton erreicht worden

ist (siehe Tabelle 5). Ebenfalls wurden mit den Elementaranalyse-Ergebnissen die molaren Massen berechnet. Die durch die Synthese eingestellten Größenunterschiede waren auch hier gut wiederzufinden und die kalkulierten molaren Massen waren nur geringfügig kleiner als die mittels ^1H -NMR-Spektroskopie ermittelten Werte. Auf eine vollständige Betainisierung deutet auch das IR-Spektrum mit der Umwandlung von Amin- in Ammonium-Gruppen hin.

Weitere PDMS-*b*-PSPE, die sich hinsichtlich ihres Hydrophil/Hydrophob-Gleichgewichtes noch stärker unterscheiden, konnten nicht hergestellt werden. Durch die Verwendung eines größeren PDMS-Initiators konnte ebenfalls ein amphiphiles Diblock-Copolymer synthetisiert werden (siehe Anhang: Kapitel 9.5). Jedoch konnte keine Funktionalisierung mittels Adsorption/Entrapment-Prozess erfolgen, da dieses Copolymer unlöslich war. Polymere mit geringerem zwitterionischen Anteil konnten synthetisiert werden, aber nicht aus der Reaktionslösung extrahiert werden. Auf Grund dieser Tatsache weist das Hydrophil/Hydrophobe-Gleichgewicht der hergestellten Block-Copolymere mit 82 %, 87 % und 90 % ähnliche Werte auf.

6.2.2 Synthese von kationischen Polymeren auf Basis von PDMAEMA

Mit Hilfe der ATRP des Monomers DMAEMA wurde der Grundbaustein für die Synthese der kationischen Polyelektrolyten gelegt. Anhand des linearen Verlaufes bei der halblogarithmischen Auftragung des Umsatz-Zeit-Diagramms (siehe Abbildung 31) wurde bewiesen, dass es sich um eine schnell initiierte Polymerisation mit vernachlässigbaren Abbruchreaktionen handelt. Dies konnte durch die niedrigen Polydispersitäten der erhaltenen Polymere, welche bei 1.3 ± 0.1 lagen, unterstützt werden. Obwohl mit der ATRP von DMAEMA aus der Arbeit von Berndt ebenfalls geringe Polydispersitäten erhalten wurden, wies die Auftragung der Kinetik erster Ordnung auf eine langsamere Initiierung hin¹³². Dies konnte hier durch einen Wechsel des Katalysator-Systems deutlich verbessert werden. Hierzu wurde das $\text{CuCl}/\text{CuCl}_2$ -System durch den reaktiveren Katalysator CuBr ausgetauscht. Ein vergleichbarer linearer Verlauf wurde von Lenoir et al. ebenfalls erreicht¹⁴⁴, die jedoch die Aktivität des Katalysators durch eine Erhöhung der Temperatur verbessert haben.

Innerhalb der Reaktionszeit von fünf Stunden wies der Verlauf der Umsatz-Zeit-Kurve ein hohes Maß an Kontrolle über die Polymerisation auf. Danach scheint die Reaktion weitestgehend vollendet zu sein. Durch mögliche Abbruchreaktionen nimmt die Anzahl an persistenten Radikalen, welche die aktiven Radikale abfangen, zu. Wodurch sich das Gleichgewicht zunehmend auf die Seite der schlafende Spezies verschiebt, sodass nur ein sehr langsames Wachstum stattfinden kann¹⁰². Aufgrund der abnehmenden Konzentration an Monomeren in Lösung mit fortwährendem Polymerisationsverlauf und der zunehmenden Viskosität ist ein gleichmäßiges Wachstum der Ketten nach fünf Stunden zusätzlich kinetisch erschwert. Jedoch konnten reproduzierbare, einstellbare Polymere synthetisiert werden, welche die GPC-Analysen eine molare Masse (M_n) von 16.8 ± 1 kDa ergaben. Die mittels ^1H -NMR-Spektroskopie bestimmten molaren Massen fielen mit 14.5 ± 1.2 kDa etwas geringer aus. Dabei muss jedoch festgehalten werden, dass die Voraussetzung gegeben sein muss, dass alle Initiatoren aktiv sind und jede Polymerkette die gleiche Länge aufweist.

Die ATRP mit dem Initiator Ethyl- α -Bromoisobutyrat **8** ist ähnlich zu der ATRP mit dem Makroinitiator PDMS-Cl **3**, die in Kapitel 6.2.1 beschrieben wurde (siehe Abbildung 66).

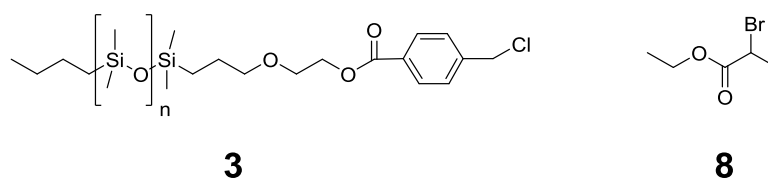


Abbildung 66: Vergleich der ATRP-Initiatoren PDMS-Cl (3**) und Ethyl- α -Bromoisobutyrat (**8**)**

Beide Polymerisationen des Monomers DMAEMA liefen in dem Lösungsmittel Toluol bei einer Temperatur von 55 °C ab und wurden nach 5 Stunden abgebrochen. Als Ligand wurde jeweils HMTETA eingesetzt. Bei der Synthese des kationischen Polymers mit dem „kleinen“ Initiator Ethyl α -Bromoisobutyrat wurden weitaus größere Polymerketten hergestellt, als bei dem amphiphilen Polymer, weshalb eine höhere Reaktionsgeschwindigkeit für die Synthese des PDMAEMA nötig war. Hierzu wurde im Gegensatz zu der Synthese, die in Kapitel 6.2.1 beschrieben wurde, CuBr als Katalysator eingesetzt. CuBr kann aufgrund der geringeren Bindungsstärke das Halogen schneller übertragen als CuCl. Dieser Effekt der niedrigeren Bindungsenergie der Kohlenstoff-Brom-Bindung im Vergleich zu Kohlenstoff-Chlor-Bindung wirkt ebenfalls beim Initiator. Der Makroinitiator PDMS-Cl aus dem Kapitel 6.2.1 ist sterisch

größer und hat Chlorid als Halogen, wohingegen der Initiator Ethyl- α -Bromoisobutyrat Bromid als Halogen besitzt. Zudem lässt sich die Geschwindigkeit der Reaktion durch die funktionellen Gruppen in direkter Umgebung des Halogenids beim Initiator beeinflussen. Hierbei ist der Initiator Ethyl- α -Bromoisobutyrat **8** durch die sekundäre Alkylverbindung mit einem Carbonyl-Substituenten reaktiver als der Makroinitiator PDMS-Cl **3** mit einer primären Alkylverbindung mit stabilisierenden Phenyl-Substituenten (siehe Abbildung 66).

Mit Hilfe der Quarternisierungsreagenzien 1,3-Propansulton, Methyljodid und Oktylbromid erhielt das Polymer PDMAEMA seine Funktionalität. Zunächst erfolgte die Herstellung der PTMAEMA-co-PSPE mit variiertem zwitterionischen Anteil. Mit Hilfe der Elementaranalyse, IR- und ^1H NMR-Spektroskopie konnte eindeutig nachgewiesen werden, dass sich durch die Sulfobetainisierung der zwitterionische Anteil gut einstellen lässt. Durch die Quarternisierung mit Methyljodid konnte eine 100 %ige Umsetzung der Amin-Gruppe durchgeführt werden. Diese gab dem Polymer den kationischen Anteil und wurde durch die Abwesenheit der Methylgruppe in chemischer Umgebung des tertiären Stickstoffes in IR- und ^1H NMR-Spektroskopie nachgewiesen. Weiterhin konnte das Grundpolymer PDMAEMA mit 25 % Zwitterionen zusätzlich mit einem 25 % Oktylrest erfolgreich hergestellt werden. Die lange hydrophobe Alkylkette am Stickstoff soll dem Polymer eine zusätzliche antimikrobielle Eigenschaft verleihen.

6.3 Beschichtungsverfahren Adsorption/Entrapment

Der Prozess der Funktionalisierung via Adsorption/Entrapment-Technik konnte erfolgreich an das PDMS-Kathetermaterial und an das Funktionalisierungsreagenz angepasst werden. Der große Vorteil der Technik besteht darin, dass das Polymer vor der Beschichtung gründlich charakterisiert werden kann. So können gut definierte Polymere mit einer engen Molarmassenverteilung eingesetzt werden. Als Funktionalisierungsreagenz wurde das amphiphile Block-Copolymer PDMS-*b*-PSPE mit unterschiedlich großem zwitterionischem Fragment verwendet. Hierbei sollte das PDMS als Ankerblock, welches in das gequollene PDMS-Kathetermaterial eingebettet wird, verwendet werden, während sich der funktionelle Block mit den Zwitterionen nach außen richtet und die Oberfläche hydrophiler gestaltet. Wie bereits in Kapitel 5.3 beschrieben, erfolgte eine Variierung der Adsorption/Entrapment-Technik von Berndt et al.⁸¹. Die Quellung des PDMS-Materials und die Lagerung in der Lösung mit Funktionalisierungsreagenz, dem amphiphilen Polymer, erfolgten in zwei separaten Teilschritten. Dadurch konnte zum einen ein weitaus höherer Quellungsgrad des PDMS erreicht werden und zum anderen die Kontakt-Zeit des PDMS in dem Funktionalisierungsreagenz gekürzt werden. Auf diese Weise ließ sich eine mögliche Hydrolyse des PDMS durch das Aussetzen des Materials in 1 molarer Salzsäure ausschließen. Aufgrund der Unlöslichkeit von PDMS in Wasser liegt das amphiphile PDMS-*b*-PSPE als Mizelle im Funktionalisierungsreagenz vor. Dabei bildet der PDMS-Anteil den Kern der Mizelle. Diese Mizelle muss für eine optimale Adsorption des hydrophoben Fragmentes an das PDMS-Material aufgebrochen werden. Ein wichtiger Faktor zur Ausbildung von Mizellen ist die Art des Lösungsmittels. Hierbei hat sich gezeigt, dass bei einem Lösungsmittelgemisch aus Quellungsreagenz und Wasser im Verhältnis von 25 : 75, wie bei Berndt verwendet, keine CMC gemessen werden konnte (siehe Kapitel 5.2.3). Dies lässt darauf schließen, dass das Polymer weiterhin als Mizelle vorliegt und nur schwer an die Oberfläche adsorbieren kann. Eine Erhöhung des Anteils des Quellungsreagenz THF im Gemisch setzte die Löslichkeit des PDMS-*b*-PSPE deutlich herab. Durch die Separation des Quellungsreagenzes und des Funktionalisierungsreagenzes kann eine potentielle Erhöhung der THF Konzentration an dem PDMS-Material selbst erreicht werden. Dies hat zur Folge, dass sich die Mizellen aufgrund der Unlöslichkeit des Zwitterions in THF umwandeln und sich an der PDMS-Oberfläche

reverse Mizellen bilden können. In dieser Zeit erfolgt die Adsorption des hydrophoben Fragmentes des PDMS-*b*-PSPE an das Polymersubstrat, wie in der Arbeit von Guo et al. beschrieben⁸². Durch die Quellung kann das hydrophobe Fragment zusätzlich mit der hydrophoben Oberfläche wechselwirken und in das gequollene Netzwerk eindringen (vgl. Abbildung 33). Gleichzeitig orientiert sich der hydrophile Teil weiterhin von der Oberfläche weg. Aufgrund der recht großen Polarität von THF ist der gequollene Zustand des PDMS-Materials in Wasser nur temporär vorhanden. Durch die Vermischung des THF mit dem Funktionalisierungsreagenz entquillt das PDMS-Material wieder. Nach 30 Minuten kann von einer vollständigen Entquellung des Materials ausgegangen werden. Aus diesem Grund wurde die Funktionalisierungszeit auf eine halbe Stunde herabgesetzt.

Mittels der „*captive bubble*“ Kontaktwinkelmessung wurde das Vorhandensein des funktionellen Blocks des amphiphilen Block-Copolymers auf dem Kathetermaterial nachgewiesen. Durch die Funktionalisierung via Adsorption/Entrapment-Technik konnten für beide Materialien sehr geringe Kontaktwinkel von 30 ° mittels des Ellipse Fittings gemessen werden und weisen somit eine signifikant hydrophilere Oberfläche im Vergleich zu den Kontrollversuchen von PDMS ohne Polymer auf (siehe Abbildung 35 und Abbildung 36).

Auch die vorgestellten Ergebnisse der Zeta-Potential-Messungen bestätigen, dass das PDMS-Kathetermaterial mittels des Block-Copolymers erfolgreich funktionalisiert wurde (siehe Abbildung 34). Das unmodifizierte PDMS hatte ein überwiegend negatives Zeta-Potential im pH-Bereich- von 3 bis 10 und der isoelektrische Punkt wurde bei einem pH-Wert von 4.8 ermittelt. Danach wurde das Zeta-Potential bis zu einem Wert von -75 mV stetig negativer. Im Gegensatz zum eher linear abfallenden Zeta-Potential des Schlauch-Materials erreicht das Ballon-Material diesen Wert mit einem Plateau bei einem pH-Wert von 9. Dabei bestehen Ähnlichkeiten zwischen dem pH-abhängigen Zeta-Potential-Verlauf von PDMS und Siliciumdioxid, dessen isoelektrischer Punkt innerhalb des pH-Bereiches von 4 bis 6 liegt^{145,146} und im PDMS als Füllstoff verwendet wird. Weiterhin kann die Ladungsdichte durch mögliche Hydroxyl-Gruppen an der Oberfläche zustande kommen¹⁴⁵.

Die pH-abhängigen Zeta-Potential-Verläufe der modifizierten Kathetermaterialien ergaben im Vergleich zu den Referenzproben eine Bedeckung der PDMS-Oberfläche mit einem hydrophilen und insgesamt neutralen Polymer. Jedoch scheint das PDMS nicht vollständig

mit den Zwitterionen bedeckt zu sein. Aufgrund der Tatsache, dass es sich beim PSPE um einen starken Typen an Zwitterionen handelt, kann dieser die zwitterionischen Eigenschaften über den ganzen pH-Bereich beibehalten. Bei der von Yang et al. vorgestellten PET-Membran, welche mit PSPE via ATRP gegrftet wurde, wies das Zeta-Potential von PSPE eine nahezu Null-Netto-Ladung über den ganzen pH-Bereich von 3 bis 10 auf¹⁴⁷. Die modifizierten PDMS-Materialien weisen dagegen eine sigmoidale Kurve mit einem isoelektrischen Punkt nahezu im neutralen pH-Bereich auf. Obwohl die Verschiebung des isoelektrischen Punktes der modifizierten Proben beim Schlauch-Material größer war, scheint der Kurvenverlauf des Ballon-Materials näher an die Null-Netto-Ladung heranzukommen. Dieser Unterschied könnte unter anderem an der Materialbeschaffenheit liegen. Aufgrund der größeren Maschenweite und dem damit verbundenen Quellverhaltens (siehe Kapitel 6.1) ist das Einbetten des Block-Copolymers via Adsorption/Entrapment-Technik für das Ballon-Material möglicherweise effizienter als für das Schlauch-Material.

Eine gleichmäßige Benetzung der Oberfläche mit Wasser hängt nicht nur von der chemischen Komposition an der Oberfläche ab, sondern auch von der Struktur der Modifikation. Ein wichtiger Parameter bei der Verhinderung der Proteinadsorption ist die Oberflächendichte des funktionellen Polymers und somit der Konformation. Bei *gepfropften* Polymerketten unterscheidet man generell zwei verschiedene Konformationen der Polymerketten, die zuerst von de Gennes beschrieben wurden^{148,149}. Zum einen die sogenannte Pilz-Konformation und zum anderen die Bürsten-Konformation. Die Charakterisierung der Konformation hängt dabei von der Belegungsdichte und dem Streumassenradius der gepfropften Polymerketten, also auch von der molaren Masse und der Affinität zur Grenzfläche und zum Lösungsmittel, ab. Die Pilz-Konformation kommt bei sehr niedriger Oberflächenbedeckung vor, bei der die Pfropfpunkte so weit entfernt liegen, dass die gepfropften Polymerketten keine Überlappungen aufweisen. Dabei befinden sich die Polymerketten bei niedriger Affinität zur Oberfläche in der sogenannten Pilz-Konformation und bei höherer Affinität in der sogenannten Pfannkuchen-Konformation¹⁵⁰. Bei höherer Pfropfdichte herrscht ein minimaler Abstand zwischen den Pfropfpunkten, wodurch die Polymerketten aufgrund der seitlichen Abstoßung in eine gestreckte Anordnung gezwungen werden. Daraus bildet sich die sogenannte Bürsten-Konformation. Die erhaltenen Zeta-Potentiale lassen darauf schließen, dass die einzelnen Polymerketten nicht

perfekt überlappen und somit eine Pilz-Konformation vorliegt. Ebenfalls deutet, wie später im Text beschrieben, der Proteinadsorptions-Test auf eine Pilz-Konformation hin. Die Oberflächendichte kann durch Variierung der Pfropfdichte und/oder der Kettenlänge des funktionellen Fragments beeinflusst werden. Feng et al. funktionalisierten Silizium-Wafer mit dem Zwitterion Poly(2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine) (PMPC) und untersuchten den Einfluss der Oberflächendichte von 0.06 bis 0.39 Ketten/nm² und der Kettenlänge von 5 bis 200 Monomereinheiten¹⁵¹. Es zeigte sich, dass mit zunehmender Pfropfdichte und zunehmender Kettenlänge der Kontaktwinkel deutlich gesenkt wurde. Beim Vergleich der Fibrinogen-Adsorption konnte folgende Schlussfolgerung gezogen werden: Je höher die Pfropfdichte und je länger die Kettenlängen des PMPC waren, desto bessere Antifouling-Leistung wurden erzielt. Im Vergleich zu vielen anderen „*grafting-to*“ oder „*grafting-from*“ Beschichtungsverfahren, kann bei der Adsorption/Entrapment-Technik, die Pfropfdichte nicht so leicht beeinflusst werden. Ein entscheidender Faktor für die Anordnung der Adsorptionsschicht ist die kritische Mizellbildungskonzentration (CMC)^{110,152}. Aufgrund der Zusammensetzung des amphiphilen Diblockcopolymers aus einem sehr hydrophilen Block, den Zwitterionen, und einem stark hydrophoben, wasserabweisenden Block, dem PDMS, kam es zur Ausbildung von Mizellen in Lösung. Durch die Herstellung bedingt, konnte der Einfluss der Zusammensetzung der einzelnen Polymerblöcke nicht stark variiert werden. Die hydrophil/hydrophobe Balance der Block-Copolymere liegt mit 82 %, 87 % und 90 % recht nah beieinander (vgl. Kapitel 6.2.1). Ebenfalls konnte, wie die CMC-Messungen zeigten, keine Veränderung der Mizellenausbildung durch die Änderung der Polymerkonzentration erreicht werden. Da dies für alle getesteten PDMS-*b*-PSPE gilt, sind die Adsorptionsbedingungen bei allen Polymeren ähnlich. Mit Hilfe der ATRP wurde die Kettenlänge der Zwitterionen eingestellt. Bei der Auswertung der Oberflächenfunktionalisierung mittels Kontaktwinkel- und Zeta-Potential-Messungen war jedoch kein signifikanter Unterschied der Oberflächeneigenschaften erkennbar. Auch bei den Biofilmbildungs-Tests war die Kettenlänge nicht ausschlaggebend. Weiterhin konnte keine eindeutige Antibiofouling-Eigenschaft durch das Adsorption/Entrapment-Verfahren festgestellt werden. Für das Schlauch-Material wurde im Vergleich zum unmodifizierten Material eine Verbesserung der Biofilmbildung von 30 % erzielt. Jedoch fiel der Fehler für beide Basismaterialie höher aus als für die modifizierten Proben. Im Gegensatz zum Schlauch-Material konnte eine

Verbesserung der Biofoulingbildung mit dem Ballon-Material nicht bestätigt werden. Der Vergleich der unmodifizierten Proben von Ballon- und Schlauch-Material zeigte in dieser Testreihe, dass die Biofilmbildung beim Schlauch-Material stärker ausfällt. In weiteren Tests wie dem Kristallviolett-Tests und den CLSM-Bildern zeigte der Vergleich der beiden unmodifizierten Proben immer ein höheres Fouling bei dem Ballon-Material auf.

Um den Widerstand der modifizierten Proben gegen die Adsorption von Proteinen weiter zu bewerten, wurde die Adsorption von zwei Proteinen mit unterschiedlichem Molekulargewicht getestet. Hierzu wurde zumal das kleine Protein Myoglobin (17 kDa) und das größere Protein BSA (66 kDa) untersucht. Dabei handelt es sich um globuläre Proteine, welche eine leicht ellipsoide Form aufweisen (Myoglobin: $4.5 \times 3.5 \times 2.5 \text{ nm}^3$ und BSA: $14 \times 4 \times 4 \text{ nm}^3$)¹⁵². Die Veränderung der adsorbierten Massen an Myoglobin und BSA in Relation zum unmodifizierten PDMS-Material sind in Tabelle 10 aufgelistet.

Tabelle 10: Veränderung der adsorbierten Masse der Proteine auf den modifizierten Material im Vergleich zum unmodifizierten Material getestet an dem Schlauch-Material.

Adsorbierte Masse		PDMS- <i>b</i> -PSPE ₂₀	PDMS- <i>b</i> -PSPE ₃₀	PDMS- <i>b</i> -PSPE ₄₀
Myoglobin	1 Stunde	9.2 %	1.3 %	1.3 %
	2 Stunden	37.1 %	23.7 %	7.0 %
	3 Stunden	34.5 %	17.4 %	34.1 %
BSA	1 Stunde	44.2 %	56.0 %	92.4 %
	2 Stunden	76.3 %	79.9 %	89.0 %
	3 Stunden	52.6 %	88.6 %	88.7 %

Alle modifizierten Oberflächen zeigten ähnliche Eigenschaften, was mittels Kontaktwinkel- und Zeta-Potential-Messungen bestätigt werden konnte. Dennoch geht aus der Tabelle hervor, dass das kleine Protein Myoglobin weitaus stärker an der Oberfläche adsorbiert als das größere BSA. Eine Begründung hierfür könnte in der Konformation der Polymerketten auf der PDMS-Oberfläche liegen. Wie bereits bei der Zeta-Potential-Messung festgestellt,

handelt es sich hierbei nicht um eine perfekte zwitterionische Bedeckung des Materials. Die Flächenbedeckung und die Polymerketten erfüllen nicht die Bedingungen um einer ausgeprägte Brüten-Konformation zu entsprechen. Die Polymerketten liegen zu einer höheren Wahrscheinlichkeit in der Pilz-Konformation vor, in dessen Abständen das kleinere Protein Myoglobin besser adsorbieren kann als das größere BSA-Protein, wie in Abbildung 67 schematisch dargestellt ist.

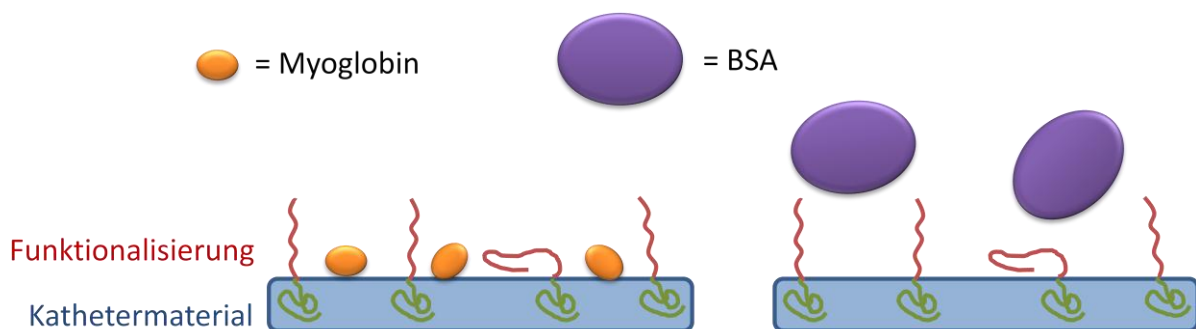


Abbildung 67: Schematische Darstellung der Anlagerung von Proteinen unterschiedlicher Größen.

Die Polymerketten scheinen eine effizientere sterische Abschirmung der Oberfläche gegenüber größeren Proteinen zu erreichen. Dies ist dadurch zu erklären, dass die Polymerketten dicht genug beinander liegen. Des Weiteren scheint auch die Polymerkettenlänge eine Rolle zu spielen. Dafür spricht die unterschiedlich große adsorbierte Menge an BSA bei der Variierung der Polymerketten-Länge. Mit zunehmenden zwitterionischen Segmenten nimmt die adsorbierte Menge an BSA deutlich ab. Für das größte Polymer kann die Adsorption von BSA sogar um 90 % reduziert werden. Anhand der Proteindurchmesser kann gefolgert werden, dass die Flächenbedeckung Defekte in der ungefähren Größe von 3 bis 12 nm aufweisen dürften. Die Polymere sind mit 7 12 kDa etwas kleiner als das Myoglobin. Der hydrodynamische Durchmesser der Polymerketten hängt jedoch stark von der Umgebung ab. Durch die Zugabe von Gegenionen, kommt es zu einer Konformationsänderung der Polymerketten. Durch die elektrostatische Anziehung und die dipolaren Wechselwirkungen der Polyzwitterionen in wässriger Lösung kollabieren die Polymerketten und bilden die Pilzstruktur. Dabei spielen intramolekulare Wechselwirkungen innerhalb des Zwitterions aber auch zu benachbarten Sulfobetain-Einheiten zwischen derselben oder benachbarten Polymerketten eine Rolle. Durch die Zugabe eines Salzes

werden die anziehenden Wechselwirkungen abgeschirmt und das Polymer nimmt eine gestreckte Konformation an¹⁵³. Dieses Verhalten steht im Kontrast zu dem Lösungsverhalten von Polyelektrolyten und ist auch als Anti-Polyelektrolyt-Effekt bekannt. Auch die Konzentration und Art des verwendeten Salzes hat einen Einfluss auf die Konformationsänderung der Polymerkette. Aufgrund der unterschiedlichen Wechselwirkungen ist es schwierig, den hydrodynamischen Durchmesser der Polyzwitterionen-Kette auf der Oberfläche abzuschätzen. Die Proteinadsorptions-Experimente werden in einer 100 mM Phosphatpuffer-Lösung mit einem pHWert- von 7.4 durchgeführt. Vermutlich werden die Polymerketten durch die Anlagerung von Gegenionen deshalb in einer leicht gestreckten Konformation vorliegt. Laut *Chem3D* von *CambridgeSoft* liegt der Interaktions-Radius eines SPE-Monomers bei 3.34 nm und liegt somit ungefähr in der Größenordnung des Durchmessers für Myoglobin. Desweiteren fällt auf, dass in der ersten Stunde die Adsorption des Proteins BSA am höchsten ausfällt. Für das größte Polymer bleibt diese konstant über die Zeit, wohingegen die adsorbierte Masse bei den anderen Polymeren zunimmt.

Vergleichbare Untersuchungen des Einflusses der zwitterionischen Polymerkettenlängen auf die Adsorption von unterschiedlichen Proteinen wurde von Chang et al. durchgeführt¹⁵⁴. Hierbei erfolgte die Funktionalisierung von einer mit hydrophoben Methylgruppen terminierte selbstorganisierenden Monoschicht (SAM) mit einem Block-Copolymer, bestehend aus dem Zwitterion SPE und Poly(Propylenoxid) (PPO). Durch die Adsorption konnte auch hier keine vollständige Bedeckung der Oberfläche mit dem Zwitterion erreicht werden. Jedoch zeigten die Untersuchungen, dass durch die längeren, zwitterionischen Polymerketten weitere Abstände zwischen den Ketten entstanden sind. Die zwitterionische Schicht zeigte eine gute Resistenz gegen die Adsorption von unterschiedlichsten Proteinen. Dabei wurden die besten Ergebnisse mit dem Protein BSA erzielt.

Ebenso relevant ist die Arbeit von Lazos et al.¹⁵² Hierbei wird die größenselektive Proteinadsorption auf Polystyrol-Oberflächen, welche mit Polyethylenglykol (PEG) grafted worden sind, untersucht. Dabei wurde die Adsorption von Di- und Triblockcopolymeren mit unterschiedlichen Kettenlängen in wässriger Lösung an die Oberfläche untersucht. Hier zeigte sich ebenfalls mit zunehmendem Molekulargewicht eine Reduzierung der

Proteinadsorption grade bei dem Vergleich der Proteine Myoglobin und BSA. Die mit PEG beschichteten Oberflächen wiesen eine unvollständige Oberflächenabdeckung und eine weniger geordnete Oberflächentopographie auf. Das kleine Protein Myoglobin adsorbierte an die Oberfläche. Die Adsorption des größeren BSA hingegen wurde stärker abgeschirmt. Auch hier konnte ein Einfluss der Kettenlänge auf die Proteinadsorption festgestellt werden. Je höher die PEG-Dichte ist desto effektiver ist die Beschichtung.

Zusammenfassend konnte eine Methode zur Herstellung einer stabilen poly-zwitterionischen Oberfläche etabliert werden. Durch das Eintauchen des in THF gequollenen PDMS-Kathetermaterials in die wässrige Funktionalisierungslösung mit den einstellbaren amphiphilen Block-Copolymeren folgte die Adsorption und Entquellung des PDMS-Materials. Aufgrund von hydrophoben Wechselwirkungen und van-der-Waals-Kräften konnte der hydrophobe PDMS-Block in das PDMS-Elastomer eindringen. Durch das Entquellen wurde der PDMS-Block fest in dem Kathetermaterial verankert, wodurch die Zwitterionen beständig an die Oberfläche gebunden wurden. Aufgrund des elastischen Materials eignet sich das PDMS hervorragend zum Quellen und Entquellen. Für die Anwendung als Antifouling Funktionalisierung zeigten die Ergebnisse, dass mit Hilfe der Zwitterionen die Oberfläche resistenter gegen Proteinadsorption ist, jedoch spielt die Oberflächendichte der Zwitterionen eine entscheidende Rolle. Dabei ist bekannt, dass die Pfropfverfahren von Polymeren chemisch gesehen weniger anspruchsvoll sind, da keine aufwendigen Synthesewege nötig sind. Allerdings sind die Kopplungsreaktionen zwischen dem Ankerpolymeranteil und der Oberfläche häufig sehr komplex. Im Wesentlichen handelt es sich bei „grafting-to“ um einen selbstbegrenzenden Prozess, da die Polymere durch die schon früher vorliegenden Polymerketten diffundieren müssen, um eine reaktive Stelle auf der Oberfläche zu erreichen¹⁵⁵. Der große Nachteil liegt somit in der begrenzten Pfropfdichte und der Dicke der erhaltenen Schichten. Für eine bessere Antifouling Funktionalisierung ist eine höhere Flächenbedeckung durch das Zwitterion PSPE erforderlich. Um die Limitierung bei „grafting-to“ zu umgehen, nutzten Luzinov et al. die Temperaturabhängigkeit der Pfropfkinetik aus. Mit steigender Temperatur nimmt die Pfropfdichte zunehmend zu¹⁵⁶. Auch das schrittweise kontrollierte Eintauchen der Probe und die Dauer des Kontakts zwischen der Oberfläche und der Polymer-Lösung ist entscheidend¹⁵⁵.

6.4 Beschichtungsverfahren Layer-by-Layer

Um die Beschichtung via *Layer-by-Layer*-Technik mit den synthetisierten Polykationen sowie dem Polystyrolsulfonat und dem Enzym Cellobiose Dehydrogenase zu unterstützen, wird die Oberfläche mit APTS modifiziert. Die Silanisierung wurde mittels Kontaktwinkel-Messung überprüft und war sowohl für die Si-Wafer als auch für beide PDMS-Materialien erfolgreich. Durch den Vergleich der Kontaktwinkel mit den von Archibald et al. gemessenen kann bei den verwendeten Si-Wafern von einer Monolage an APTS ausgegangen werden¹³⁶. Ein weiterer Beweis für die Silanisierung der Si-Wafer ergab sich zusätzlich aus der XPS-Messung, welche einen hohen Anteil an quartären Aminogruppen aufwiesen (siehe Abbildung 41). Mit Hilfe des Ninhydrin-Nachweises wurde die Anwesenheit primärer Aminogruppen ebenfalls bestätigt. Dieser Test wurde ebenso als Nachweis für die silanisierten PDMS-Materialien verwendet und fiel stets positiv aus.

Die AFM-Messungen der APTS-funktionalisierten PDMS zeigten eine baumartige Topografie der Oberfläche des PDMS auf, was auf Abbildung 48b zu sehen ist. Die Siloxan-Schicht weist nicht genügend Verankerungsstellen auf. Eine Ursache für eine solche Struktur liegt darin, dass die APTS-Moleküle nicht durchgehend an der Oberfläche gebunden sind. Dies entsteht durch die konkurrierende Kondensationsreaktion zwischen den Hydroxylgruppe der Oberfläche und den Hydroxylgruppen des APTS selbst (vgl. Abbildung 39). Durch die Silanol-Kondensation entstehen dreidimensionale Polysiloxan-Netzwerke, die nicht vollständig an der Oberfläche verankert sind. Durch das Trocknen ziehen sich die Polysiloxan-Netzwerke zusammen und es entstehen partielle Segregationen. Eine weitere Ursache könnte auch die vorherige Hydrolyse der Oberfläche sein, da dadurch die Silanisierung nicht gänzlich ablaufen konnte und somit keine vollständige Stabilisierung auf der Oberfläche gewährleistet war. Aufgrund des Charakters der Hydrophobie und der niedrigen Glasübergangstemperatur des PDMS können sich die Hydroxyl-Gruppen über die Zeit durch Rekonstruktion der Polymerketten neu anordnen. Jedoch erfolgte der Schritt der Silanisierung unverzüglich nach der Hydrolyse des PDMS. Bessere Ergebnisse könnte durch eine Plasma-Behandlung erreicht werden. Mit Hilfe von Sauerstoff-Plasma können Hydroxylgruppen auf dem PDMS erzeugt werden¹⁵⁷. Trotz der nicht ganz homogenen Beschichtung mittels APTS bestätigten die Zeta-Potential-Messungen eine positive Ladung

des PDMS-Materials (vgl. Abbildung 54), sodass diese mittels *Layer-by-Layer*-Technik erfolgen konnte.

Mit Hilfe der *Layer-by-Layer*-Technik sollen möglichst gut definierte Multischichtsysteme hergestellt werden. Dabei soll die Oberfläche stabil und vollständig von dem Substrat bedeckt sein, sodass der Oberfläche eine neue Funktionalität verliehen wird. Die Funktionalität der Antifouling Beschichtung erfolgte zunächst durch das Einbauen zwitterionischer Gruppen in das synthetisierte Polykation. Jedoch schwächen die Zwitterionen die Stärke des Polykations ab. Um diesem entgegen zu wirken wurde ein stark wechselwirkendes Polyanion mit einer großen molekularen Masse gewählt. Dabei handelt es sich um Polystyrolsulfonat (PSS) mit einer molaren Masse (M_n) von ungefähr 70 kDa. Die synthetisierten Polykationen wiesen nach der vollständigen Quarternierung eine molare Masse (M_n) von 17 kDa bis 20.3 kDa auf. Eine Kombination zwischen „niedrigen“ und „hohen“ molaren Massen der Polyelektrolyte wird für die *Layer-by-Layer*-Technik häufig verwendet⁹⁵. So zeigten Schlenoff et al., dass mit dem in dieser Arbeit gewählten PSS als Polyanion ein Multischichten-System möglich war. Dies gelang sogar mit einer sehr „niedrigen“ molaren Masse von 3.5 kDa als Polykation¹⁵⁸. Unter allen Einflüssen, die bei *Layer-by-Layer*-Beschichtungen eine Rolle spielen, stellen die Art des Polyelektrolytens und die Salzkonzentration die wichtigsten Faktoren dar. In dieser Arbeit wurde die Salzkonzentration so gewählt, dass die Bedingungen für eine lineare Wachstumsrate der Schichtdicke gegeben waren. Die Untersuchungen zur Abhängigkeit der Schichtdicken von der molaren Masse der Polyelektrolyte von Seyrek et al. zeigten, dass die Schichtdicke bei den unterschiedlich großen Polyelektrolyten in salzarmer Lösung konstant war¹⁵⁹. Dahingegen nimmt bei höherer Salzkonzentration die Schichtdicke mit zunehmender molarer Masse zu. Die gelösten Ionen des Salzes führen zu einer elektrostatischen Abschirmung der Oberflächenladung des Polyelektrolytens, wodurch die ursprünglich gestreckten Polymerketten aufgrund der geringfügigeren Abstoßungskräfte zwischen den Polymerkettengliedern verknäult vorliegen. Dies führt zu einer erheblichen Veränderung des Adsorptionsverhaltens der Polyelektrolyten. Durch die Verknäulung des Polyelektrolytens wird eine höhere Schichtdicke mit einer geringeren Dichte erreicht. Ohne Salz adsorbiert der Polyelektrolyt in einer flachen Konformation an der Oberfläche¹⁶⁰. Aus diesem Grund erfolgte die Beschichtung in einer salzarmen Lösung bei einem pH-Wert von 6.

Die Schichtdicken wurden mittels Ellipsometrie Messungen ermittelt. Die in Abbildung 40 dargelegten Ergebnisse, zeigen eine deutliche, systematische Erhöhung der Schichtdicke für alle Modifikationsschritte. Wie bei vielen *Layer-by-Layer*-Verfahren steigt die Schichtdicke nicht linear mit der Anzahl der Beschichtungszyklen an. Aufgrund der Tatsache, dass in dieser Arbeit die Beschichtung immer nach dem gleichen Versuchsprotokoll unter den gleichen Adsorptionsbedingungen (wie zum Beispiel salzarme Lösung, gleicher pH-Wert, Raumtemperatur, Polymerkonzentration sowie Beschichtungs- und Waschzeiten) durchgeführt wurde, wird die Schichtdicke in dieser Arbeit durch den Polyelektrolyten beeinflusst. Dabei wird dieser hinsichtlich seiner molaren Masse und seiner Ladungsdichte variiert. Die erhaltenen Gesamtschichtdicken fielen nach vier Lagen mit Schichtdicken von 14 nm und 16 nm für die Beschichtungen mit 0 % und 25 % zwitterionischem Anteil sehr ähnlich aus. Bei dem Polykation mit 50 % Anteil an zwitterionischen Gruppen hingegen wurde mit 10 nm eine deutlich geringere Schichtdicke ermittelt. Die Schichtdicke des Polyanions PSS betrug jeweils ungefähr 2 nm. Dies wird auch durch die Untersuchungen der einzelnen Polyelektrolytschichten bei geringem Salzgehalt von Seyrek et al. bestätigt¹⁵⁹. Auf Basis der Daten kann darauf geschlossen werden, dass die Schichtdicke stark von dem Polykation und dessen Ladungsdichte abhängt. Trotz der niedrigen Gesamtschichtdicke scheint die Differenz der Schichtdicken für das Polykation mit der niedrigsten Ladungsdichte (50 % zwitterionischem Anteil) am stärksten ausgeprägt. Eine Erklärung für ein solches Verhalten des Schichten-Wachstums geben Hoogeveen et al. in Hinblick auf die Ladungs-Überkompensation der Polyelektrolytmultischichten^{161,162}. Hochgeladene Polymere bleiben fest an der Oberfläche gebunden und formen somit stabile Multischichten. Die Oberflächenladung kehrt sich schon bei einer geringen Adsorptionsmenge um. Durch die Verringerung der Ladungsdichten des adsorbierenden Polyelektrolyten müssen jedoch für eine Überkomposition der Ladung mehr Polymere adsorbieren als für das Polymer mit hoher Ladungsdichte. Aufgrund dieser Tatsache existiert eine kritische Ladungsdichte. Bei Polyelektrolyten, welche unterhalb dieses Werts liegen, reicht die resultierende Oberflächenladung nicht aus, um im nächsten Schritt eine weitere Schicht zu adsorbieren. Die Ergebnisse der Ellipsometrie zeigen, dass nach einer Reduzierung der Ladungsdichte um 50 % die kritische Ladungsdichte noch nicht erreicht wurde.

Vergleichbare Untersuchungen durch Schöler et al. erfolgten mit dem Polyanion PSS und einem statistischem Copolymer aus Poly(diallyldimethylammoniumchlorid) (PDADMAC) und N-Methyl-N-Vinylacetamid mit verschiedenen Prozentsätzen⁹³. Ihre Beobachtungen weisen hierbei eine kritische Ladungsdichte bei einem Prozentsatz zwischen 53 % und 75 % an kationischen DADMAC-Gruppen auf. Dabei postulieren die Autoren, dass das Copolymer mit niedriger Ladungsdichte ebenso an die Oberflächen adsorbiert, dieses jedoch leichter wieder desorbiert wird. Durch das Eintauchen in eine Lösung mit entgegengesetzt geladenem Polymer könnte sich das bereits adsorbierte Polymer wieder ablösen. Dies könnte der Grund sein, warum die PSS-Schicht bei der Beschichtung mit dem 50 % zwitterionischen Anteil geringer ausfällt als bei den anderen Polykationen und somit eine größere Differenz zwischen den Schichtdicken der anionischen und kationischen Schicht vorliegt.

Eine weitere Begründung könnte in der Trocknungsart der Proben liegen. Für die ellipsometrische Messung wurden die Proben vor Ort mit einem Luftstrom getrocknet. Aufgrund des hydrophilen Charakters könnte in der Probe weiterhin eine nicht definierte Menge an Wasser enthalten sein^{163,164}. Dodoo et al. unterscheiden hierbei zwischen Wasser, welches sich in den Leerräumen innerhalb der Schichten befindet und dem „Quellungs“-Wasser, das direkt an das Polymer gebunden ist⁹⁴. Dabei steigt das Quellverhalten der Polymere mit zunehmendem Polysulfobetain-Gehalt an¹⁶⁵, was sich auch in den erhaltenen Schichtdicken widerspiegelt. Dass der Trocknungseffekt eine signifikante Rolle bei der Beschichtung aufweist, wird auch durch die AFM-Messungen gezeigt (siehe Abbildung 50).

Die XPS-Messungen mit Si-Wafern weisen auf eine erfolgreiche *Layer-by-Layer*-Beschichtung hin (vgl. Kapitel 5.4.1.3). Hierbei wurde zur Bestimmung der Filmzusammensetzungen nur die quantitative Element Analyse durchgeführt. Als Maß wurde die Intensität des Siliziums genommen, welche proportional zur Schichtdicke abnimmt. Die XPS-Messung von PDMS-Material wies keine signifikanten Änderungen auf (siehe Anhang: Kapitel 9.6). Die zuvor im XPS gemessenen Oberflächen zeigten sowohl durch einen Ninhydrin-Test der silanisierten Proben als auch durch eine AFM-Messung der mit *Layer-by-Layer*-beschichteten Proben eine Funktionalisierung der Oberflächen auf. Dies könnte an dem Einsatz des Neutralisators liegen. Dieser war für die Messungen aufgrund der leitenden Oberfläche der Si-Wafer ausgeschaltet. Der Neutralisator wird bei nichtleitenden Proben eingesetzt um einen

möglichen Aufladungseffekt der Proben zu vermeiden. Dabei wird mit einem Elektronen-Strahl die Probe mit Elektronen versorgt um den Verlust der Photoelektronen auszugleichen. Da der Elektronen-Strahl und der Röntgenstrahl auf derselben Stelle auftreffen, könnte die Funktionalisierung an der vermessenen Stelle vorher zerstört worden sein.

Die Kontaktwinkelmessung nach der schrittweisen Beschichtung erfolgte zunächst auf den Si-Wafern. Durch die sehr glatte Oberflächenstruktur und die Beschichtung mit einer APTS Monolage lässt sich mit den Si-Wafern der Einfluss der unterschiedlichen Polykationen sehr gut analysieren. Für die Beschichtung mittels der Polykationen mit 0 % und 25 % zwitterionischem Anteil nimmt der Kontaktwinkel oszillierend durch die alternierenden Schichten immer weiter ab (siehe Abbildung 43). Durch die Zugabe von Zwitterionen in der Schicht wurde eine deutlich hydrophilere Oberfläche erreicht. Die Abnahme des Kontaktwinkels beruht auf den Zwitterionen, welche aufgrund ihrer elektrostatischen Wechselwirkungen mit Wasser die Bildung einer stabilen Hydratationsschicht ermöglichen¹⁶⁶. Durch diese Hydratationsschicht steigt die Hydrophilie an und der Kontaktwinkel nimmt dementsprechend ab. PSS ist ebenfalls polar, jedoch durch den aromatischen Teil weniger hydrophil. Mit einem zwitterionischen Anteil von 50 % wurde keine signifikante Änderung des Kontaktwinkels im Vergleich zu 25 % Zwitterion festgestellt (siehe Abbildung 44). Ein Unterschied liegt hierbei jedoch in der fehlenden Systematik der einzelnen folgenden Schichten. Im Gegensatz zu 0 % und 25 % zwitterionischem Anteil im Polykation fehlt beim 50 % die oszillierende Veränderung des Kontaktwinkels der abwechselnden anionischen und kationischen Schichten. Einerseits spricht dies für eine sehr hydrophile Oberfläche durch die Funktionalisierung mit dem Polykation mit 50 % Zwitterion. Andererseits könnte dies auch an der geringeren Ladungsdichte und der damit verbundenen schwächeren Wechselwirkungen des Polykations in der Beschichtung liegen. Aufgrund des hohen zwitterionischen Anteils ist davon auszugehen, dass das Schichtsystem deutlich instabiler ist als ohne Zwitterionen. Die gemessene Hydrophilie ist bei den Polykationen mit 25 % und 50 % zwitterionischem Anteil gleich. Ungeachtet dessen, steigt die Hydrophilie bei dem Polykation mit 50 % zwitterionischem Anteil konstant an, sodass von einer stabilen Beschichtung ausgegangen werden kann. Bei keiner der Proben war ein Einfluss des Basismaterials auf das Schichtsystem nach der sechsten Schicht zu erkennen. Aus diesem Grund wurde in dieser Arbeit im Weiteren mit einem Sechs-Schichten-System gearbeitet.

Die schrittweise Beschichtung via *Layer-by-Layer*-Modifizierung beider PDMS-Materialien wurde ebenfalls mittels Kontaktwinkeln gemessen. Die Kontaktwinkel wurden hierbei durch die „*captive bubble*“ Methode und *Ellipse-Fitting* ermittelt. Auch bei diesen Materialien wird die Oberfläche mit zunehmender Anzahl an Schichten hydrophiler und pendelt sich bei einem Kontaktwinkel zwischen 25 ° und 30 ° ein (siehe Abbildung 46). Für das Ballon-Material scheint dieser Punkt schon nach der vierten Schicht erreicht worden zu sein, im Gegensatz zum Schlauch-Material bei das Minimum bei der sechsten Schicht festgestellt wurde. Jedoch weist das silanisierte Ballon-Material auch einen niedrigeren Kontaktwinkel als das Schlauchmaterial auf, sodass hier ebenfalls mit einem Sechs-Schichten-System gearbeitet wurde. Im Unterschied zu den beschichteten Si-Wafern zeigt die Kontaktwinkel-Messung an den PDMS-Materialien eine andere Systematik auf. Zwischen den anionischen und kationischen Schichten existiert nur eine sehr schwach ausgebildete oszillierende Änderung. Ein weiterer Unterschied zu den Messungen auf den glatten Si-Wafern ist, dass keine Korrelation zwischen dem variierten zwitterionischen Anteil des Polykations und dem Kontaktwinkel erkennbar ist. Im Vergleich zu den Si-Wafern handelt es sich bei dem PDMS um ein raues und elastisches Material. Auf dieser Oberfläche war es schwierig eine gleichmäßige Monolage mit APTS aufzubringen. Des Weiteren könnte auch die Oberflächenbeschaffenheit Einfluss auf die Messung selbst besitzen.

Mit Hilfe der Zeta-Potential-Messung wurde die Oberflächenladung der äußersten Schicht ermittelt. Das Prinzip der Beschichtung via *Layer-by-Layer*-Technik beruht auf der abwechselnden Aufbringung von kationischen beziehungsweise anionischen Polyelektrolyten und basiert auf elektrostatischen Anziehungskräften. Aus den Zeta-Potential-Messungen jeder aufgetragenen Schicht wird deutlich, wie in Abbildung 45 und Abbildung 47 gezeigt, dass die Ladung der vorherigen Schicht sich nicht neutralisiert sondern überkompensiert wird. An der Oberfläche, die durch den resultierenden Ladungsüberschuss entgegengesetzt zur vorherigen geladen ist, kann wiederum eine weitere anders geladene Schicht adsorbiert werden. Dies wird durch den oszillierenden Verlauf des Zeta-Potentials bestätigt. Hierbei war eine direkte Abhängigkeit des zwitterionischen Anteils im Polymer erkennbar. Während das Zeta-Potential der anionischen PSS-Schicht recht ähnlich ausfiel, unterscheiden sich die Werte für die kationische Schicht durch die Variierung des zwitterionischen Gehalts. Mit zunehmendem zwitterionischen Anteil im Polykation nimmt

das Zeta-Potential ab. Analog zu den Kontaktwinkel-Messungen fällt der Einfluss der verschiedenen Polymere auf die glatten Si-Wafer deutlicher aus. Bei den Si-Wafern wiesen alle PSS-Schichten fast identische Zeta-Potentiale auf. Dahingegen veränderten sich die kationischen Schichten während der Beschichtungen. Hierbei fielen die Differenzen zwischen den einzelnen Schichten bei den Messungen mit 0 %, 25 % und 50 % zwitterionischem Anteil im Polykation unterschiedlich stark aus. Der Vergleich der letzten Schicht zeigt sowohl bei den Si-Wafern als auch bei beiden PDMS-Materialien den Einfluss des zwitterionischen Anteils sehr deutlich. Dabei lässt sich der Einfluss des Polykations ebenfalls in den ermittelten isoelektrischen Punkten beobachten. In Abbildung 68 ist der Vergleich der Zeta-Potentiale der sechsten Schicht für den gesamten pH-Bereich- von 3 – 10 dargestellt.

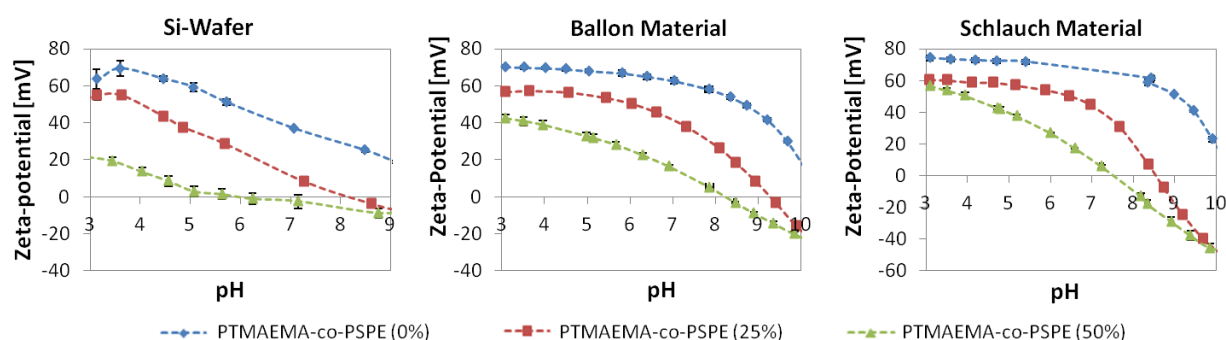


Abbildung 68: Zeta-Potential der 6-Schichten-Systems mit Variationen der Polykationen in Abhängigkeit von pH auf verschiedenen Materialien.

Hieraus wird deutlich, dass mit zunehmendem zwitterionischen Anteil in der kationischen Schicht, der absolute Wert verringert und somit die Oberfläche neutraler wird. Für das reine PTMAEMA Polymer weisen die Zeta-Potentiale über den ganzen Bereich eine positive Oberflächenladung auf, sodass kein isoelektrischer Punkt bestimmt werden konnte. Durch den zunehmenden Anteil an Zwitterionen im Polykation verschiebt sich die Kurve immer mehr zu einem neutralen isoelektrischen Punkt. Trotz der Verschiebung des isoelektrischen Punkts in den neutralen Bereich spielt der positiv geladene PTMAEMA-Anteil weiterhin eine große Rolle im Zeta-Potential. Eine aus reinem PSPE bestehende Zwitterionen-Beschichtung besitzt im Vergleich dazu über den gesamten Bereich eine Null-Netto-Ladung.

Bei allen Zeta-Messungen konnte gezeigt werden, dass eine gut definierte stufenweise Abscheidung anionischer und kationischer Polyelektrolyten trotz der unterschiedlichen Ladungsdichten möglich war.

Mit Hilfe der AFM-Messungen der PDMS-Proben wurden die Beschichtungen via *Layer-by-Layer*-Technik näher untersucht. Die erhaltenen Daten zeigten deutliche Unterschiede abhängig von der Lagerung der Proben. Die Topographien der trockenen und in Flüssigkeit gelagerten Proben weisen deutliche Unterschiede auf (siehe Abbildung 50). Die silanisierte Probe des Schlauch-Materials wies eine baumartige Topographie der Oberfläche auf (siehe Abbildung 48b). Diese Struktur tritt oftmals durch die Neuorientierung der Beschichtungsmoleküle während des Trocknungsprozesses auf¹⁶⁷. Aufgrund der Trocknung an Luft ziehen sich die APTS-Moleküle der Beschichtung zusammen und bilden Aggregate. Nach zwei Wochen Trocknung an der Luft kann von keiner homogenen Beschichtung des Schlauch-Materials ausgegangen werden. Die Messung des silanisierten Ballon-Materials zeigt nach einer Trocknungszeit von einem Tag eine recht homogene Beschichtung auf (siehe Abbildung 51b). Die Beschichtung des PDMS-Materials erfolgte direkt im Anschluss nach der Silanisierung, sodass der Trocknungseffekt für den Aufbau des Schicht-Systems keine Rolle spielen sollte. Durch die Funktionalisierung mittels *Layer-by-Layer*-Technik konnte eine vollständige Bedeckung des PDMS-Materials festgestellt werden. Signifikante Unterschiede wiesen hierbei die Trocknungsart und die Variierung der Ladungsdichte des Polykations auf. Durch die Trocknung der Proben scheint eine Entnetzung stattzufinden. Guillaume-Gentil et al. untersuchten den Einfluss der Dielektrizitätskonstante und der Oberflächenladung des Trägersubstrates auf ein Multischichtsystem, um die Wechselwirkungen zwischen den Polyelektrolyten und das dadurch entstehende mögliche Entnetzungsverhalten und die Oberflächenmorphologie zu analysieren¹⁶⁸. Aufgrund der niedrigen Dielektrizitätskonstante des PDMS wird eine physikalische Entnetzung unter Umständen durch induzierte Raumladung in dem Substrat verursacht. Ladungsabstoßungen sind unwahrscheinlich. Jedoch besitzt die Ladungsdichte einen Einfluss auf die Entnetzung. So macht es für die Oberflächentopographie einen deutlichen Unterschied, ob sich Zwitterionen in der Schicht befinden oder nicht. Beide funktionalisierten Proben weisen ein relativ gleichmäßiges makroskopisches Muster im luftgetrockneten Zustand auf. Die Höhenprofile der über zwei

Wochen luftgetrockneten Proben, die mit einem Sechs-Schichten-System funktionalisiert wurden, sind in Abbildung 69 dargestellt.

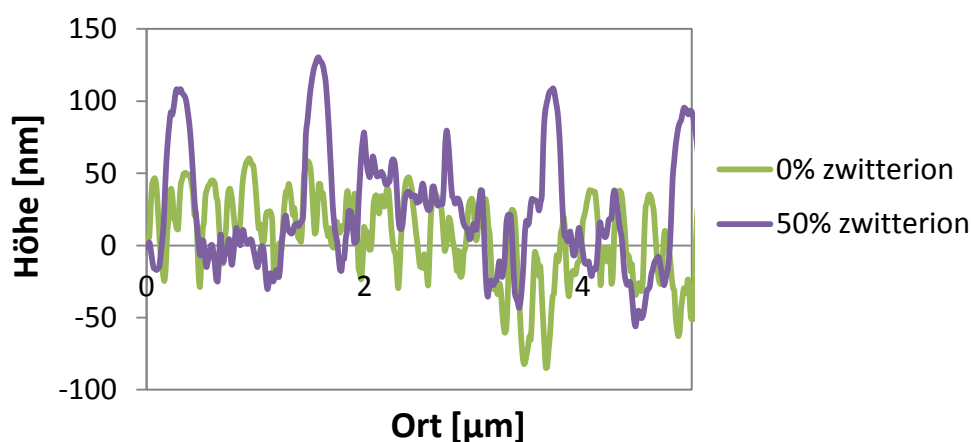


Abbildung 69: AFM topographische Profile von Schlauch-Materialien mit einem 6-Schichten-System aus Polykationen mit 0% und 50% Zwitterion Fraktion.

Hierbei zeigt sich eine sehr regelmäßige Bedeckung des Schlauch-Materials im Fall der Beschichtung mit dem Polykation ohne Zwitterion. Die Frequenz der Peaks ist bei dieser Probe um einiges höher, während die Profiltiefe bei der Beschichtung mit 50 % zwitterionischem Anteil um einiges geringer ausfällt. Dies deutet darauf hin, dass bei der Beschichtung mit dem Polykation mit 50 % Zwitterionen eine stärkere Segregation stattgefunden hat. Dieses Polykation besitzt aufgrund des hohen Anteils an Zwitterionen eine geringe Ladungsdichte an kationischen Gruppen. Dies hat eine geringere Anzahl an Wechselwirkungen pro Fläche in dem Mehrschichten-System zur Folge. Aufgrund der schwächeren Wechselwirkung zwischen den Schichten kann ein höherer Grad an Segregation während des Trocknungsprozesses auftreten. Einen Beweis für diesen Trocknungseffekt liefert der Vergleich einer identisch modifizierten Probe, bei der die eine Hälfte getrocknet wurde und die andere Hälfte in Wasser vermessen wurde. Die Topographie der Probe in Wasser belegte, dass die Struktur sehr viel dichter durch die Modifikation bedeckt war. Im Vergleich zu den trockenen Proben schien der Segregationsgrad deutlich geringer auszufallen. Im Weiteren wurde die getrocknete Probe für die Dauer einer Stunde reäquiliert und in Wasser gemessen. Die Topographie dieser Probe verdeutlichte, dass das Polymer sich an der Oberfläche wieder in Wasser entquillt, wobei die Messung kleine ringförmige Strukturen belegen (siehe Abbildung 49). Obwohl eine

eindeutige Quellung stattgefunden hat, scheint es sich hier um einen nicht-reversiblen Prozess zu handeln. Die Beschaffenheit der Oberfläche weist deutliche Unterschiede im Vergleich zu der noch durchgehend in Wasser gelagerten Probe auf. Es scheint, dass die Segregation, welche durch das Trocknen entstanden ist, durch Quellen in Wasser reduziert wird, jedoch nicht vollständig wiederhergestellt werden kann. Somit hat die Trocknung einen signifikanten Einfluss auf die Oberflächenbeschaffenheit. In der Literatur wird im Allgemeinen von besseren Antifouling-Eigenschaften ausgegangen, wenn die Oberfläche eine geringere Rauigkeit aufweist^{169–171}. Vrijenhoek et al. untersuchten die Korrelation zwischen der Oberflächenrauheit und der Fouling-Eigenschaften in Bezug auf den Fluss durch kommerzielle Umkehrosmose- und Nanofiltrations-Membranen¹⁷². In der Anfangsphase des Fouling-Tests zeigte sich in den AFM-Messungen eine deutlich höhere Adsorption von Partikeln auf der raueren Membran als auf glatten Membranen. Die Partikel reicherten sich bevorzugt in den „Tälern“ der rauen Membranen an. Daher sollte aufgrund des signifikanten Einflusses der Oberflächenbeschaffenheit auf das Fouling eine möglichst glatte Oberfläche vorliegen. Aufgrund des großen Trocknungseinflusses auf die mittels *Layer-by-Layer*-Technik beschichteten Proben wurden im Weiteren schonendere Trocknungsmethoden getestet, um eine trockene Lagerung ohne Verlust der Funktionalität der Beschichtung zu erreichen. Mit Hilfe der Gefriertrocknung konnte tatsächlich eine Verbesserung erzielt werden. Die Segregation des Polymers reduzierte sich und die Topographie zeigte eine deutlich glattere Oberflächenbeschaffenheit auf. Auf die Auswirkung der Trocknungseffekte auf die Antifouling-Eigenschaften wird in Kapitel 6.5 näher eingegangen.

Im Allgemeinen konnte durch die in verschiedenen Charakterisierungsverfahren erhaltenen Ergebnisse gezeigt werden, dass mit allen Polykationen eine stabile Beschichtung sowohl des Modellsystems Si-Wafer als auch des Kathetermaterial aus PDMS möglich ist. Die kritische Ladungsdichte wurde nicht mit dem Polymer mit 50 % zwitterionischem Anteil erreicht. Jedoch konnten deutliche Einflüsse durch die Abschwächung der elektrostatischen Wechselwirkung in der Charakterisierung dargelegt werden.

6.5 Immobilisierung von Cellobiose Dehydrogenase

Die bereits diskutierten Ergebnisse für die *Layer-by-Layer*-Beschichtung (vgl. 6.4) lassen sich weitestgehend auch auf das Schichtsystem mit dem immobilisierten Enzym *Cellobiose Dehydrogenase* übertragen. Die Kontaktwinkel-Messungen veranschaulichen ebenfalls eine durch die Modifizierung erlangte hydrophilere Oberfläche. Die beschichteten Proben wiesen Kontaktwinkel von 30 ° bis 35 ° auf, welche im Langzeittest über 10 Tage in Azid-Wasser und synthetischem Urin verblieben. Die Ergebnisse zeigten keinen Unterschied in der Hydrophilie und den verwendeten Polykationen auf.

Die Zeta-Potential-Messungen in Abbildung 54 zeigen wie die Messungen zuvor einen oszillierenden Verlauf durch jede weiter aufgetragene Schicht. Diese Ergebnisse sind charakteristisch für die elektrostatisch angetriebene *Layer-by-Layer*-Beschichtung und veranschaulichen, dass auch mit dem Enzym CDH eine weiterhin gut definierte stufenweise Abscheidung möglich ist. Im Vergleich zu den anionischen Schichten mit PSS weist das Enzym CDH in dem Schichtsystem ein erhöhtes Zeta-Potential auf. Auf der Oberfläche wurde der isoelektrische Punkt bei ungefähr 6.5 pH des immobilisierten CDH gemessen. Laut Literatur besitzt CDH einen isoelektrischen Punkt von 4.2 pH¹⁷³. Die Verschiebung des isoelektrischen Punktes könnte aufgrund des amphoteren Charakters des Enzyms zustande gekommen sein. Durch die Adsorption des Enzyms an die positiv geladene Oberfläche orientiert sich die negative Ladung zur kationischen Schicht. Dies kann zu einer Konformationsänderung des Enzyms führen, sodass mehr positive Ladung frei zur Umgebung liegt (siehe Abbildung 70).

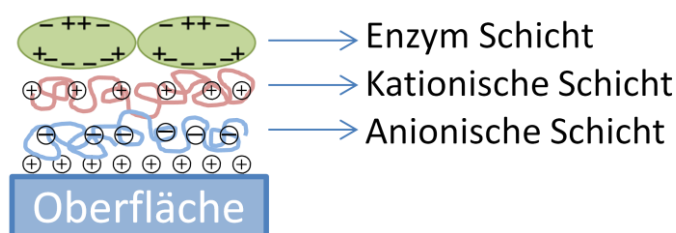


Abbildung 70: Schematische Darstellung der Konformationsänderung des Enzyms nach der Adsorption an die positiv geladene Oberfläche.

Hierdurch fällt der isoelektrische Punkt dieser Schicht deutlich höher aus als für das freie Enzym. Die schwächere Ladungsdichte des Enzyms spiegelt sich auch in der darauffolgenden kationischen Schicht wieder. Aufgrund der schwachen Ladung des Enzyms fällt die

Überkompensation durch das Polykation schwächer aus als nach der anionischen Schicht PSS. Wie in Abbildung 54 zu erkennen, ist die kationische Schicht, welche direkt nach der Enzym-Schicht folgt, weniger stark ausgeprägt. Die Ergebnisse der Zeta-Potential-Messung für die sechste Schicht mit integriertem Enzym waren jedoch sehr ähnlich zu jenen ohne Enzym. Für eine stabile *Layer-by-Layer*-Beschichtung sorgt nicht allein die wechselnde Oberflächenladung. Ein wichtiger Punkt ist hierbei auch die Entropiezunahme des Systems¹⁷⁴, sodass stabile Schichtsysteme auch mit einer schwächeren Ladung gebildet werden können.

Um eine mikrobielle Eigenschaft gewährleisten zu können, ist es wichtig, dass die Enzyme auch nach der Immobilisierung Aktivität aufweisen. Die Enzymaktivität wurde in dieser Arbeit mittels des *Amplex Red-Assay* bestimmt. Obwohl das Enzym in das Mehrschichtensystem eingebettet war, konnte für alle Proben nach zweistündiger Inkubation eine Entwicklung von Wasserstoffperoxid gemessen werden. Hierbei fielen die Untersuchungen unterschiedlich für die beiden Materialien aus. Das Ballon-Material wies im Allgemeinen eine höhere Enzymaktivität auf. Im Gegensatz zum Schlauch-Material waren hier die Unterschiede zwischen den Lagermethoden besonders deutlich zu erkennen. An dieser Stelle zeigten die gefriergetrockneten Proben eine zwei- bis dreifach höhere Enzymaktivität auf als die Proben, welche in dem 20 mM Citratpuffer bei einem pH-Wert von 5.5 gelagert wurden. Dieses Ergebnis spiegelt sich auch in den *LIVE/DEAD*-Messungen wieder, bei denen eine höhere Anzahl an toten Zellen auf den getrockneten Proben gefunden wurde. Dies ist voraussichtlich auf die Tatsache zurückzuführen, dass die Enzyme in der Regel in Lösungsmittel an Aktivität verlieren.

Bei der Auftragung fällt auf, dass die Ladungsdichte eine signifikante Rolle für die Enzymaktivität spielt. Je höher der zwitterionische Anteil im Schichtsystem war, desto geringer war die Enzymaktivität. Es scheint, dass mit der höchsten positiven Ladungsdichte das stabilste alternierende Schichtsystem gebaut wurde. Durch Verringerung der Ladungsdichte in der positiven Polymerschicht mussten für eine Überkompensation der Oberflächenladung mehr Polymere der entgegengesetzten Ladung adsorbieren. Dadurch steigt die Schichtdicke an, welches die Diffusion des Substrates an das Enzym, sowie die Freigabe des Produktes Wasserstoffperoxid aus dem Mehrschichtensystem stärker behindert.

Der Einfluss der Schichtdicken wurde bereits mit den Ellipsometrie Messungen ausführlich beschrieben. Das Polykation mit 50 % zwitterionischem Anteil liegt sehr nah an der kritischen Ladungsdichte, sodass weiterhin eine mögliche Desorption der Enzyme durch das Aufbringen einer neuen Schicht nicht vollkommen ausgeschlossen werden kann.

Eine weitere Ursache auf die Enzymaktivität könnte durch eine Konformationsänderung des Enzyms in der Umgebung mit Zwitterionen hervorgerufen worden sein, wodurch dieses inaktiver werden.

Da dieser Effekt des Zwitterionen-Anteils auf die Enzymaktivität bei den getrockneten Proben stärker ausfällt, könnte die Auswirkung der Trocknung eine weitere Rolle spielen. In der AFM-Messung konnte festgestellt werden, dass aufgrund der Kondensation der Proben eine Neuorientierung der Beschichtung folgte. Diese fiel in Abhängigkeit zur Ladungsdichte unterschiedlich stark aus. Aufgrund der schwächeren Wechselwirkungen zwischen den Schichten wurde ein höherer Segregationsgrad bei dem Polymer mit Zwitterionen erreicht. Dies kann ebenfalls die umgebene Schichtdicke des Enzyms in dem Schichtsystem erhöhen.

Der große Einfluss der Schichtdicke konnte mit dem Ort der Einbettung des Enzyms belegt werden. Aufgrund der schwachen Enzymaktivität in der dritten Schicht des sechs-schichtigen Systems wurden zusätzlich Proben getestet, bei denen sich das Enzym in der fünften Schicht befand. Dies führte zu einem drastischen Anstieg der Enzymaktivität. Bei der Immobilisierung des Enzyms in der dritten Schicht scheinen die zusätzlichen Schichten das Enzym stark abzuschirmen, sodass ein Stoffaustausch mit der Umgebung durch den langen Diffusionsweg deutlich herabgesetzt wird.

Trotz der vielen Einflüsse, wiesen die Proben alle eine Enzymaktivität auf. Für die gefriergetrockneten Proben konnte mit einer Wasserstoffperoxid-Entwicklung von 2.4 nmol/cm²h bis 3.9 nmol/cm²h eine mit der von Lipovsky et al. vergleichbare Menge an Wasserstoffperoxid gemessen werden¹⁷⁵. Hierbei wurden die Enzyme CDH mittels sonochemischem Ansatz auf das PDMS-Material aufgetragen. Die ermittelte Menge an Wasserstoffperoxid durch die immobilisierten CDH war bei den vorgestellten Versuchen ausreichend, um eine signifikante Menge an lebensfähigen Zellen, sowie der gesamten Biomasse auf der Oberfläche zu reduzieren. Dies zeigt, dass die Enzyme CDH, welche in das Mehrschichtensystem eingebettet sind, eine ausreichende Menge an Wasserstoffperoxid

produzieren, sodass eine Verhinderung der mikrobiellen Besiedlung und Abtötung von Bakterien möglich ist. Deutlich höhere Enzymaktivitäten wurden durch die direkte kovalente Immobilisierung von CDH an der PDMS-Oberfläche erreicht⁵⁵. Annähernde Ergebnisse konnten ebenfalls durch die mittels *Layer-by-Layer*-Technik immobilisierten CDH ermittelt werden, jedoch endete das Schichtsystem mit dem immobilisierten Enzym. Ohne die Abschirmung durch weitere Schichten, zeigten die Enzyme eine drei- bis viermal höhere Aktivität auf.

Mit Hilfe des *BCA*-Assay wurde die adsorbierte Menge an CDH auf den PDMS-Oberflächen untersucht. Das Verfahren ist sehr störanfällig. So wurde schon die PDMS-Referenzprobe positiv auf die Proteine getestet. Es gibt eine Menge komplexbildender Substanzen, die mit der Bichinoninsäure reagieren. Hierzu gehört bekanntlich auch das Ammonium-Ion. Aufgrund der Vormodifizierung mittels APTS entstehen primäre Ammoniumgruppen, welche möglicherweise die Quantifizierung der immobilisierten Enzyme zusätzlich erschweren. Um die Problematik der möglichen komplexbildenden Substanzen möglichst gering zu halten, wurden die immobilisierten Enzyme direkt mit dem Schichtsystem der vorigen Beschichtung verglichen. Weiterhin handelt es sich hier nur um eine Näherung der Quantifizierung der fixierten Enzyme in der Multischicht, da es sich hier um die Messung von adsorbierten Enzymen handelt. Durch eine weitere Auftragung von Schichten können adsorbierte Enzyme mit geringerer Ladungsdichte abgewaschen werden. Die Ergebnisse der Enzymdichte auf den einzelnen Proben für die Immobilisierung von CDH in der dritten oder fünften Schicht sind in Abbildung 71 für das Ballon- und Schlauchmaterial dargestellt.

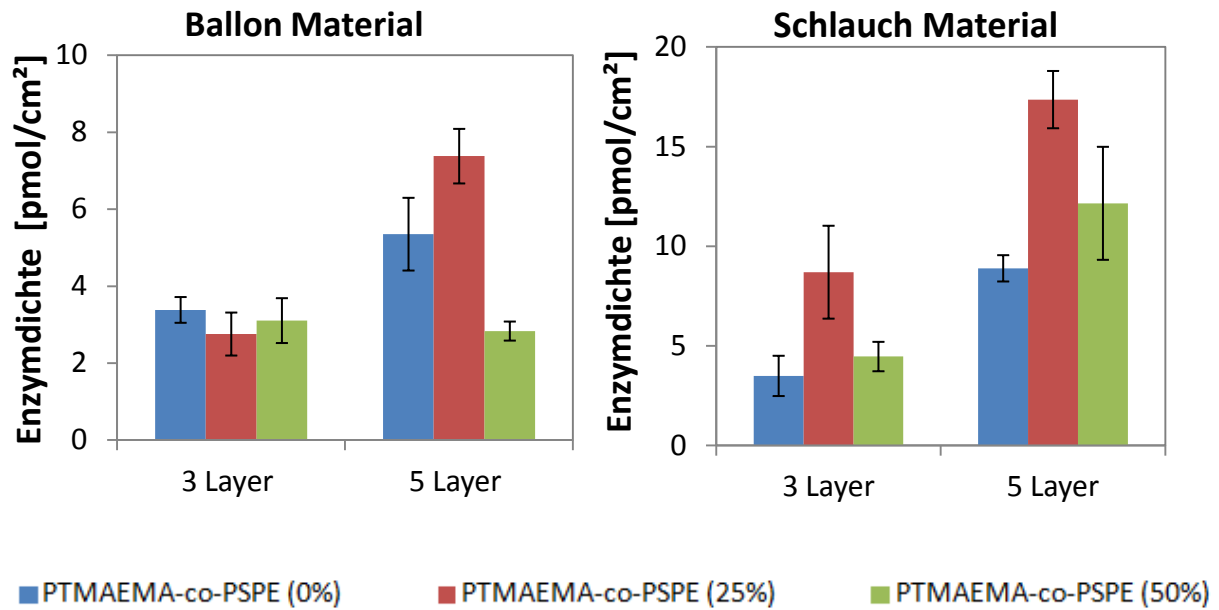


Abbildung 71: Menge an auf den Material immobilisierten Enzym CDH in Relation zu Modifizierungen bevor.

Anhand der gezeigten Ergebnisse wird deutlich, dass die Enzymdichte bei der Immobilisierung des Enzyms in der fünfte Schicht weit größer ausfällt als bei der Immobilisierung in der dritten Schicht. Aus dem Diagramm lassen sich keine genauen Rückschlüsse auf das Verhalten der Enzyme in Abhängigkeit zur Konzentration der Zwitterionen im Schichtsystem feststellen. Jedoch scheint die Adsorption der Enzyme auf dem Polykation mit 25 % zwitterionischem Anteil die höchste Enzymdichte aufzuweisen. Im Gegensatz zu den Enzymaktivität-Messungen konnte durch diese Messung eine höhere Enzymdichte durch die Beschichtung des Schlauchmaterials erlangt werden. Dies wird ersichtlich beim Vergleich der gemessenen Enzymdichte des *BCA* Assays mit den kalkulierten Enzymdichten durch die Wasserstoffperoxidentwicklung der einzelnen Proben, welche in Abbildung 72 dargestellt ist.

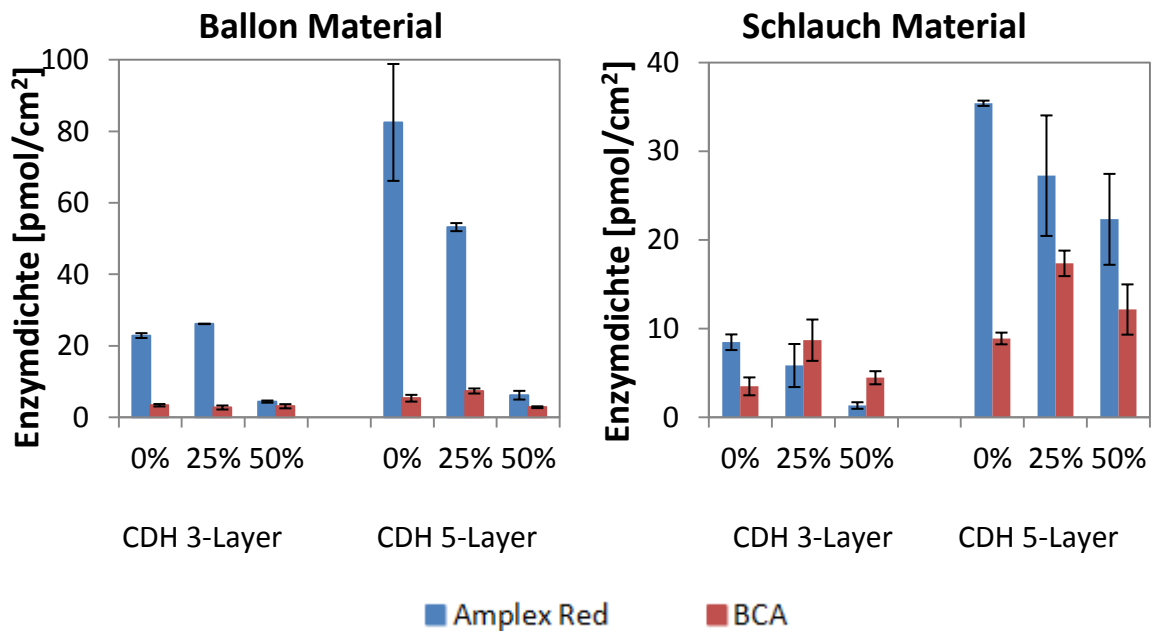


Abbildung 72: Vergleich der gemessenen Enzymdichte mittels *BCA Assay* und den berechneten Enzymdichte durch die Wasserstoffperoxidentwicklung via *Amplex Red*.

Die mittels *Amplex Red* kalkulierten Enzymdichten basieren auf der Bildung von Wasserstoffperoxid des Enzyms. So handelt es sich bei dieser kalkulierten Enzymdichte nur um immobilisierte Enzyme, welche auf der Oberfläche aktiv sind. Für die Berechnungen wurde die Wasserstoffperoxidentwicklung auf den Proben, welche in der Pufferlösung gelagert wurden, verwendet. Bei der mittels *BCA Assay* bestimmten Enzymdichte handelt es sich um eine reine Quantifizierung aller immobilisierten Enzyme. Durch die Immobilisierung der Enzyme via *Layer-by-Layer*-Technik kann es zu einer Veränderung der Konformation des Enzyms führen, was wiederum einen Effekt auf ihre Aktivität besitzt. Basierend auf diesem Sachverhalt wäre eine geringe Enzymdichte durch die Kalkulationen des *Amplex Red* Assays sehr wahrscheinlich. Aus Abbildung 72 geht hervor, dass die quantitativ auf der Oberfläche vorliegenden Enzyme durch die Immobilisierung deutlich aktiver sind. Der Unterschied zwischen den beiden Messungen ist besonders stark beim Ballon-Material. Dagegen stimmt die Enzymdichte der beiden ermittelten Werte des Schlauch-Materials recht gut überein. Durch die Konformationsänderung der Enzyme in ihrer Umgebung kann durchaus eine Aktivitätsveränderung hervorgerufen werden, wodurch die Enzyme auch aktiver sind. Jedoch ist hierbei festzuhalten, dass sich die Quantifizierung mittels *BCA Assay* auf dem PDMS-Material aufgrund der bereits komplexierenden Referenzproben als schwierig erwies.

Der Nachweis von Biofilmbildung erfolgte mittels der Kristallviolett-Färbung, welche die bakterielle Adhärenz von *Staphylococcus aureus* Zellsuspension an den PDMS-Proben quantifiziert. Als Referenzprobe dient das unmodifizierte Material, welches für die nasse Probe genauso lange in 20 mM Citratpuffer gelagert wurde wie die jeweiligen Proben. Für die Proben mit dem Ballon-Material konnte durch die Funktionalisierung der Proben eine Reduzierung der adhärennten Biomasse im Gegensatz zur unmodifizierten Probe beobachtet werden. In Abbildung 73 ist die prozentuale Biofilm-Hemmung in Relation zur Referenzprobe für das Sechs-Schichtensystem mit variierten Polykationen und unterschiedlicher Einbettung des immobilisierten Enzyms in 3 oder 5 Schicht dargestellt.

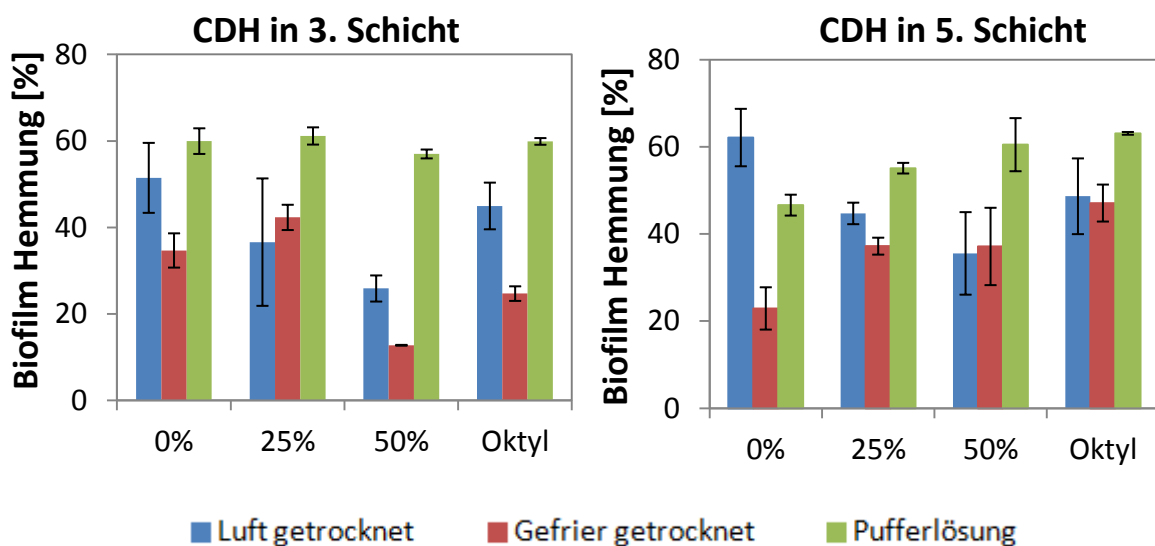


Abbildung 73: Biofilm Hemmung von 6-Schichten modifizierten Ballon-Material mit variierten Polykationen und in 3 oder 5 Schicht immobilisierten Enzym relativ zum Basis-Material.

Die in Citratpuffer gelagerte Probe zeigt bei allen Funktionalisierungen mit einer durchschnittlichen Verringerung von $58 \pm 4\%$ eine recht konstante Reduzierung der gesamten Biomasse an der Oberfläche. Die Biofilm-Hemmung für die trocken gelagerten Proben ist um einiges geringer: So wird die Biofilmbildung bei den luftgetrockneten Proben um durchschnittlich $44 \pm 8\%$ und bei den gefriergetrockneten Proben um $32 \pm 9\%$ im Verhältnis zur Referenzprobe reduziert. Eine Ursache für die stärkere Reduzierung des Biofilms bei den nassen Proben könnte an der glatteren Oberfläche der Beschichtung liegen. Wie die AFM-Messungen gezeigt haben, hatte die Konzentration der Zwitterionen im Polykation besonders bei den luftgetrockneten Proben einen Einfluss auf die

Oberflächenbeschaffenheit. Je höher die Ladungsdichte war, desto geringer war die Rauheit der Proben aus. Für die Biofilmbildung ist die Rauheit einer Probe von großer Bedeutung, was gerade durch die Messung der luftgetrockneten Proben bewiesen wurde. Hierbei steigt die Biofilmbildung mit zunehmender Konzentration an Zwitterionen an. Ein solcher Trend ist nur bei den luftgetrockneten Proben zu erkennen. Bei den anderen Lagerungsarten ist keine derartige Veränderung durch die Varyierung des zwitterionischen Anteils zu erkennen. Durch das Lagern in Pufferlösung oder das schonende Trocknen mittels Gefriertrocknung wurde versucht, das Schichtsystem zu stabilisieren, sodass über die Zeit keine Segregation auf der Oberfläche stattfindet. Im besten Fall sollten die Oberflächen ähnlich beschaffen sein, sodass der Einfluss der Rauheit möglichst gering gehalten wird. Dadurch könnte der Einfluss der Antifouling-Wirkung des Zwitterions in dem Schichtsystem eindeutiger ermittelt werden.

Eine Verbesserung des antimikrobiellen Effekts des Enzyms durch das Einbetten von CDH in die fünfte Schicht schaffte keinen zusätzlichen vorteilhaften Effekt auf die Parameter.

In Abbildung 74 sind die Ergebnisse der Biofilm-Messung für das Schlauch-Material dargestellt.

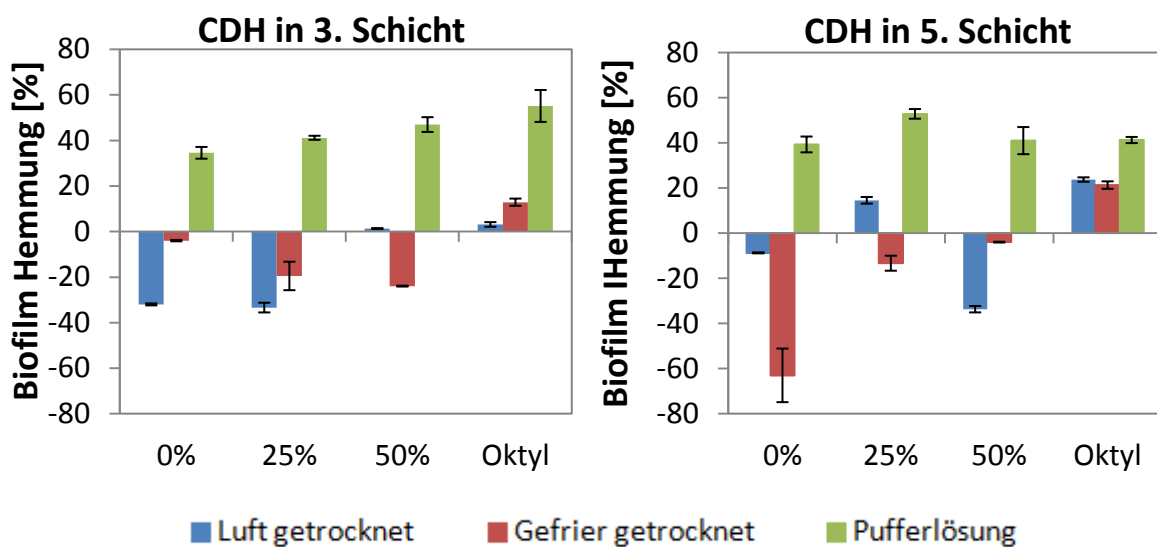


Abbildung 74: Biofilm Hemmung von 6-Schichten modifizierten Schlauch-Material mit varierten Polykationen und in 3 oder 5 Schicht immobilisierten Enzym relativ zum Basis-Material.

Wie bereits beim Ballon-Material dargestellt wurde, konnten auch hier die besten Ergebnisse mit den Proben, welche in einer Pufferlösung gelagert wurden, erreicht werden. Für die getrockneten Proben wurde häufig eine Zunahme der adhärenen Biomasse im

Gegensatz zur Referenzprobe beobachtet. Jedoch ist hier festzuhalten, dass die Extinktion der unmodifizierten Probe sehr gering im Vergleich zu der nassen Probe ausfiel. Dieses Ergebnis passt ebenfalls nicht zu den für das Ballon-Material festgestellten Unterschieden zwischen den beiden Referenzproben. Die besten Ergebnisse erzielten die Proben mit 25 % zwitterionischem Anteil und 25 % Oktyl-Rest im Polykation. Hierbei konnte bei allen Proben eine Reduzierung der Biomasse auf der Oberfläche erkannt werden. Aufgrund der gemessenen durchschnittlichen Reduzierung der Biomasse um 44 ± 6 % der in Pufferlösung gelagerten Probe, scheint die Funktionalisierung via *Layer-by-Layer*-Technik für das Ballon-Material effektiver zu sein. Eine effizientere Modifizierung des Ballon-Materials im Vergleich zum Schlauch-Material wurde ebenfalls durch die kovalente Immobilisierung des Enzyms CDH von Thallinger et al. festgestellt⁵⁵. Mittels der Kristallviolett-Messung zeigte sich eine Reduzierung der gesamten Biomasse für das Schlauch-Material von 30 %, während das Biofouling auf dem Ballon-Material um 70 % reduziert werden konnte. Diaz Blanco et al. funktionalisierte das PDMS-Material mittels „*grafting from*“-Methode, sodass die Oberfläche komplett mit dem Zwitterion SPE bedeckt war¹⁵⁷. Die Funktionalisierung senkte die Rauheit der Proben deutlich ab und die Kristallviolett-Färbung zeigte eine Minimierung der Biomasse von *Staphylococcus aureus* um 58 % beim Schlauch-Material. Bei der Messung mittels Kristallviolett-Färbung wird die totale Biomasse vermessen, welche sowohl lebende als auch tote Bakterien beinhaltet. Im Gegensatz zu der Arbeit von Diaz Blanco wurde in dieser Arbeit die Antifouling-Eigenschaft des Zwitterions mit der antibakteriellen CDH-Immobilisierung und einer kontaktbioziden QAC kombiniert. Durch die Kombination sollten die auf der Oberfläche vorliegenden Bakterien getötet werden.

Mit Hilfe der *LIVE/DEAD*-Messung kann zwischen den lebenden und toten Zellen unterschieden werden. Die in Abbildung 61 dargestellten CLSM-Bilder des Schlauch-Materials visualisieren den deutlichen Effekt des zwitterionischen Anteils in der Modifizierung der Proben. Die Proben wurden bei der Messung an der Luft getrocknet, sodass hier der Einfluss der Segregation der Beschichtung während der Kondensation besonders stark vorlag. Für die Probe mit 0 % zwitterionischem Anteil konnten in den CLSM-Aufnahmen keine Reduzierung der Bakterien beobachtet werden. Erst durch die Erhöhung der zwitterionischen Konzentration in der Beschichtung bildeten sich Cluster auf der Oberfläche. Obwohl hier größere Kolonien an adhärenierten Bakterien sichtbar waren, waren

die besiedelten Flächen geringer und zeigten eine deutliche Verringerung der Anzahl an Bakterien auf der Oberfläche. Die teilweise flussarmähnliche Struktur der Bakterien auf der Oberfläche könnte auf die Segregation der Beschichtung zurückzuführen sein.

Die Messungen der gefriergetrockneten und nassen Proben zeigen, dass der Einfluss der variierenden Zwitterionenkonzentration auf den Bakterienbewuchs geringer ausfiel, was auf die glattere Oberflächenbeschaffenheit zurückzuführen ist. Jedoch wiesen die unterschiedlichen Lagerungsarten Einfluss auf die Effizienz der Beschichtungen auf. Die effizienteren Beschichtungen konnten mit den weniger rauen Oberflächen der nassen Proben erreicht werden. Beeinflusst durch die Oberflächenbeschaffenheit weisen die nassen Proben bessere Antifouling-Eigenschaften auf, wohingegen die Enzymaktivität durch die Lagerung der Proben mittels Gefriertrocknung deutlich höher ausfiel. Dies wird sowohl durch die Wasserstoffperoxid-Messung via *Amplex Red Assay* als auch die CLSM-Aufnahmen aufgrund der rotgefärbten Flächen bestätigt.

Wie auch bei der Kristallviolett-Färbung ist eine stärkere Reduzierung der Biofilmbildung auf dem Ballon-Material zu erkennen. Durch die Kontaktwinkel- und Zeta-Potential-Messungen konnte bewiesen werden, dass durch die Beschichtung mittels *Layer-by-Layer*-Technik nach spätestens der sechsten Schicht die Oberflächen vollständig maskiert wurden. Dementsprechend sollten die chemischen Bestandteile des PDMS keine Auswirkung auf die CLSM-Aufnahmen besitzen, sodass hier die haptischen Eigenschaften des Materials Einfluss auf die Messungen nehmen. Dieser Effekt wurde ebenfalls bei anderen Funktionalisierungsmethoden der beiden PDMS-Materialien beobachtet. Sowohl bei der kovalenten Immobilisierung von CDH⁵⁵ und der Funktionalisierung mittels *grafting from* mit Zwitterion SPE¹⁵⁷ als auch durch das *quorum quenching* durch Beschichten des Kathetermaterials mit Acylase via *Layer-by-Layer*-Technik⁷⁴ wurden jeweils effizientere Antifoulingoberflächen auf dem Ballon-Material als auf dem Schlauch-Material geschaffen.

Insgesamt konnte gezeigt werden, dass sich das Mehrschichten-System gut als Reservoir für die Enzym-Immobilisierung eignet und so zu deutlichen Verringerungen des Biofoulings führen kann.

6.6 Kontaktbiozide Beschichtungen

Als kontaktbiozide Beschichtung dienen hydrophobe Seitengruppen bestehend Ammoniumgruppen mit Oktylketten, welche durch die Zellmembranen der Bakterien penetrieren können und jene somit zerstören. Für die Kombination des Antifouling Effekts mit der kontaktbioziden Komponente wurde ein Polykation synthetisiert, welches aus drei Blöcken besteht: 25 % Zwitterion, 25 % quarternierter Oktyl-Rest und 50 % quarternierte Methyl-Gruppen. Die Bestimmung der jeweiligen Anteile erfolgte mittels ^1H NMR-Spektroskopie und zeigte, dass die jeweiligen Anteile gut einstellbar waren. Mit der Quarternisierung mit 1,3Propansulton wurde für das Polykation ein zwitterionischer Anteil von 26.7 % und ein hydrophober Seitengruppen Anteil von 26.2 % ermittelt.

Das verwendete Polymer wurde mittels *Layer-by-Layer*-Technik erfolgreich auf das PDMS-Material in die letzte Schicht aufgetragen. Die Charakterisierung dieses Schichtsystems weicht von den bereits diskutierten Ergebnissen für das Polykation mit einem zwitterionischen Anteil von 25 % kaum ab (vgl. 6.5). Ebenfalls zeigen die Wasserstoffperoxid-Messungen, dass der Oktyl-Rest keinen Einfluss auf die Enzymaktivität des CDH besitzt.

Eine ernstzunehmende Verbesserung der Antifouling-Eigenschaften der Probe konnte mittels des Biofouling-Tests via Kristallviolett-Färbung nicht bewiesen werden. Wie in Abbildung 73 und Abbildung 74 zu erkennen ist, konnte jedoch eine geringfügig stärkere Reduzierung der Biomasse der Proben, welche zusätzlich Oktyl-Reste beinhalteten, nachgewiesen werden. Bei dieser Methode kann jedoch nicht zwischen lebenden und toten Zellen unterschieden werden.

Mit Hilfe der *LIVE/DEAD*-Fluoreszenz-Färbung der adhärenen Bakterien auf der Oberfläche wurden die Beschichtungen weiterhin auf tote Bakterien getestet. Jedoch wird durch die Messung nicht analysiert, ob die Enzyme oder die quarternäre Ammonium-Komponente für die Tötung der Zellen verantwortlich waren. Es kann allerdings die jeweilige Probe mit einem zwitterionischen Anteil von 25 % als Referenzprobe verwendet werden.

Die CLSM-Aufnahmen der Proben, welche in Pufferlösung gelagert wurden, deuten darauf hin, dass der Oktyl-Rest keine Wirkung besitzt. Für die kontaktbioziden Strategien spielt das Herausragen der separaten hydrophoben Ketten eine wichtige Rolle. Durch die

durchgehende Lagerung der Proben in einer hydrophilen Umgebung, könnten sich die hydrophoben Ketten aufgrund der Thermodynamik gegenseitig zusammen- und/oder zur Beschichtung hinziehen. Eine mikrobiozide Wirkung ist dagegen für die getrockneten Proben gegeben. Hier konnte eine geringfügig höhere bakterizide Wirkung gegen *Staphylococcus aureus* beobachtet werden. Insbesondere zeigt sich der Effekt bei den luftgetrockneten Proben in Abbildung 61. Die CLSM-Aufnahmen ohne Oktyl-Rest weisen nur vereinzelt tote Zellen auf. Im Vergleich dazu weist die Oberfläche mit dem Oktyl-Rest vereinzelte Cluster an toten Zellen auf. Aus der Neuorientierung der Beschichtung beim Trocknen an Luft könnte eine günstigere Konformation der hydrophoben Seitenketten resultieren. Mit Hilfe der schonenden Trocknungsart mittels Gefriertrocknung ist ebenso ein geringfügig positiver Effekt auf dem Ballon-Material zu beobachten.

Für die Beschichtung mittels quarternärer Ammoniumverbindungen spielt die Ausdehnung der Alkylketten eine signifikante Rolle, um einen kontaktbioziden Effekt zu erreichen und den bakteriellen Biofilmbewuchs zu verhindern. Während quarternäre Ammoniumverbindungen in Lösung ganz durch die Zellmembran hindurchdringen können, sind oberflächengebundene Moleküle stark durch ihre Moleküllänge begrenzt und können erst mit einem gewissen Abstand zur Oberfläche hinein penetrieren¹⁷⁶. Für eine effektivere Wirkung müssen die Ketten so gerichtet sein, dass diese durch die Zellmembran hindurchdringen und sie somit zerstören können. So zeigten die Ergebnisse des Adsorption/Entrapment-Experiments mit quaternisierten DMAEMA von Berndt et al., dass die Effektivität der Beschichtung von dem Molekulargewicht des Funktionsblockes abhängig ist¹⁰⁹. Bei Oktylketten eines höheren Molekulargewichts wurde eine höhere bakterizide Wirkung erreicht. Jedoch adsorbiert das Polymer bei der *Layer-by-Layer*-Beschichtung „lateral“ auf der Oberfläche und es können lediglich Schlaufen der Polymerkette herausragen. Bei dem Adsorption/Entrapment-Mechanismus besitzt die Polymerkette bestenfalls nur einen Pfropfpunkt an der Oberfläche, so dass die Kette „frei“ vorliegt und so gesehen „vertikal“ von der Oberfläche abstehen kann. Für ein besseres Antibiofouling und eine kontaktbiozide Beschichtung könnte eine Kombination aus zwitterionischen- und Oktyl-Gruppen via Adsorption/Entrapment-Mechanismus sorgen. Durch eine Erhöhung der Pfropfdichte konnte gezeigt werden, dass aufgrund der geringeren Freiheit der Alkylketten, die Antibiofouling Eigenschaft herabgesetzt wird¹⁷⁷. Eine Verbesserung in dieser Arbeit

könnte möglicherweise durch eine Verlängerung der Alkylketten erreicht werden. Bis zu einer Anzahl von 18 Kohlenstoffatomen konnten gute biozide Effekte gezeigt werden.

7 Schlussfolgerungen und Ausblick

Das Hauptziel dieser Arbeit war die Herstellung von maßgeschneiderten Copolymeren für die Modifizierung von PDMS-Kathetermaterial, welche der Oberfläche eine Antibiofouling Funktionalität verleihen sollen. Im ersten Teil dieser Arbeit wurde das Kathetermaterial untersucht. Neben den haptischen Eigenschaften bewiesen die Untersuchungen, dass das Ballon-Material eine größere mittlere Maschenweite und somit eine geringere mittlere Vernetzungsdichte als das Schlauch-Material aufwies. Zudem zeigte das Ballon-Material ein stärkeres Quellverhalten. Sowohl das Schlauch- als auch das Ballon-Material verhielten sich gegenüber den unterschiedlichen Lösungsmitteln, abgesehen vom Quellungsgrad, identisch. Dadurch kann bei beiden Materialien von den gleichen Inhaltsstoffen ausgegangen werden, jedoch weisen diese unterschiedliche Vernetzungsgrade und Füllstoff-Mengen auf.

Im synthetischen Teil dieser Arbeit wurde zum einen ein amphiphiles Block-Copolymer mit einer definierten Anzahl an Wiederholungseinheiten synthetisiert. Dieses konnte mit Hilfe der ATRP mit dem Monomer DMAEMA kontrolliert hergestellt werden. Die Reaktion wurde an den Makroinitiator angepasst und wies Charakteristika einer kontrollierten, lebenden Polymerisation auf. Anschließend folgte die Umsetzung des DMAEMA durch eine Betainisierung zum Zwitterion. Es wurden drei unterschiedliche Längen des zwitterionischen Blockes hergestellt.

Zum anderen wurden Copolymere für die Verwendung als Polykation mit gezielter Variierung des zwitterionischen Anteils und hydrophoben Seitenketten erfolgreich synthetisiert. Hierfür erfolgte die Optimierung der ATRP von DMAEMA, sodass die Polydispersität im besten Fall bei 1.22 lag und reproduzierbare Ergebnisse des Molekulargewichts der Polymere ergaben. Durch gezielte Quarternisierung ließen sich die zwitterionischen und hydrophoben Seitenketten Anteile des Polykations gut einstellen.

In der Summe handelt es sich bei der ATRP von DMAEMA um eine gute Möglichkeit, maßgeschneiderte Block-Copolymere und kontrollierte Grundpolymere PDMAEMA für die Verwendung als Polykation herzustellen. Um die gewünschte Funktionalität zu erreichen, wurde die Ammonium-Gruppe des DMAEMA erfolgreich quarternisiert.

Die Funktionalisierung des PDMS-Materials mit dem hergestellten Diblock-Copolymer PDMS-*b*PSPE via Adsorption/Entrapment--Verfahren ermöglichte deutlich hydrophilere Oberflächen. Mit Hilfe der Kontaktwinkelmessung konnte gezeigt werden, dass die Funktionalisierung in Wasser und synthetischem Urin über einen Zeitraum von 10 Tagen stabil war. Die Zeta-Potentiale zeigten eine deutliche Verschiebung des isoelektrischen Punktes in den neutralen Bereich. Jedoch konnte keine vollständige Bedeckung der Oberfläche erreicht werden. Durch die Oberflächencharakterisierung konnte kein Einfluss der Anzahl der Wiederholungseinheiten des Polyzwitterions beobachtet werden. Hier wären nähere Untersuchungen mit weiteren Variierungen des Hydrophil/Hydrophob-Gleichgewichts mit größerem hydrophobem Anteil sinnvoll, um einen tieferen Einblick in das komplexe Verhalten zu bekommen und eine mögliche Erhöhung der Pfropfdichte zu erreichen. Im Vergleich zu den Referenzproben konnte keine Verbesserung der Antibiofilmbildung erreicht werden. Mit Hilfe der spezifischen Adsorption von Proteinen konnte gezeigt werden, dass mit der Modifizierung der Proben die Adsorption von großen Proteinen wie BSA deutlich reduziert werden kann. Hierbei zeigte sich eine deutliche Abhängigkeit zwischen der Reduzierung von BSA-Adsorption und der Kettenlänge des hydrophilen Anteils. Mit dem größten zwitterionischen Anteil konnte die Adsorption von BSA um 90 % im Vergleich zur Referenzprobe vermindert werden. Jedoch kann die Adsorption von kleinen Proteinen die weitere Adsorption von Proteinen beeinflussen. Insgesamt handelt es sich um einen sehr aussichtsreichen Ansatz, um einer Polymeroberfläche durch ein simples Eintauch-Verfahren auf rein physikalischer Basis nachträglich Antifouling Eigenschaften zu verleihen.

Desweiteren konnten gut definierte ultradünne Mehrschichtensysteme auf verschiedenen Substraten hergestellt werden, welche die Oberfläche stabil und vollständig bedecken und dieser somit neue Eigenschaften verleihen konnten. Dies erfolgte durch die Funktionalisierung via *Layer-by-Layer*-Technik mit den synthetisierten multifunktionellen Polykationen und der Immobilisierung des Enzyms *Cellobiose Dehydrogenase*. Für eine bessere Charakterisierung wurde als Modellsubstrat Si-Wafer verwendet, welches anschließend erfolgreich auf die PDMS-Kathetermaterialien übertragen wurde. Alle hergestellten Schichtsysteme waren über einen Zeitraum von mindestens 10 Tage in Wasser und synthetischem Urin stabil. Durch die Variierung des zwitterionischen Anteils bis zu 50 %

konnte gezeigt werden, dass die Grenze der kritischen Ladungsdichte, welche die Adsorption von weiteren Schichten signifikant beeinflusst, nicht erreicht wurde. Jedoch zeigten die Beobachtungen die fehlenden systematischen Verläufe der Kontaktwinkel der jeweiligen aufgetragenen Schichten. Auch bei der Ellipsometrie-Messung wurde nur eine abgeschwächte Gesamtschichtdicke des Polymers mit 50 % zwitterionischem Anteil im Gegensatz zu den Polymeren mit geringeren zwitterionischen Anteilen ermittelt. Dies kann auf die reduzierte Ladungsdichte zurückgeführt werden. Durch die Erhöhung des zwitterionischen Anteils wurden neutralere und hydrophilere Oberflächen erreicht. Eine große Rolle spielte die Ladungsdichte für die Trocknungsprozesse der jeweiligen Proben. Durch die geringeren Wechselwirkungen zwischen den Schichten, orientierte sich die Beschichtung mit 50 % zwitterionischem Anteil während des Trocknens stärker zu Segregationen zusammen. Durch Gefriertrocknung konnte die resultierende Rauigkeit der Oberfläche verringert werden. Für eine bessere Stabilität könnte ein neuartiges Polyanion mit Methylester verwendet werden, welches unter milden Bedingungen von 60 °C mit Aminen eine stabile kovalente Bindungen bilden können¹⁷⁸. Durch die zusätzlich gebildeten Amid-Bindungen könnte die Neuorientierung während des Trocknungsprozess verhindern und bildet eine robustere Methode zur Vernetzung von *Layer-by-Layer*-Beschichtungen.

Die Immobilisierung des Enzyms CDH auf der Oberfläche erwies sich als erfolgreich. Das eingebettete Enzym erzeugte in Gegenwart von Polysacchariden das biozide Wasserstoffperoxid. Einen wichtigen Faktor im Hinblick auf die Enzymaktivität stellt die Position des Enzyms im Schichtsystem dar. Je tiefer sich das Enzym in dem Schichtsystem befand, desto stärker wurde der Substrataustausch durch den längeren Diffusionsweg verhindert. Durch das Einführen von hydrophoben Ammoniumverbindungen konnte zusätzlich eine kontaktbiozide Wirkung erzielt werden. Die mikrobiologischen Untersuchungen zeigten, dass durch die *Layer-by-Layer*-Funktionalisierung der PDMS-Materiale nicht nur die Biofilmbildung um 60 % im Vergleich zur Referenzprobe reduziert wurde, sondern auch die adhärierenden Bakterien getötet wurden. Insgesamt kann festgehalten werden, dass mit Hilfe der *Layer-by-Layer*-Technik dem Kathetermaterial eine Reihe neuer Oberflächeneigenschaften erfolgreich zugeführt werden könnten. Dazu zählen die Antifouling-Eigenschaft via Zwitterion, antimikrobielle Eigenschaften durch die

Immobilisierung des Enzyms CDH und eine kontaktbiozide Eigenschaft durch hydrophobe Seitenketten.

Die im Rahme dieser Arbeit dargelegten Ansätze sind vielversprechend. Besonders die Entwicklung von Antibiofouling-Oberflächen mit Zwitterionen wird in Zukunft Gegenstand der medizinischen Forschung sein. Die gewonnenen Ergebnisse der *Adsorption/Entrapment*-Modifikation geben einen Eindruck in die Komplexität des Verfahrens, welches bereits die Adsorption von Proteinen beeinflusste. Aus diesem Grund sind für zukünftige Forschungen andere Kombinationen von amphiphilen Block-Copolymeren von entscheidender Bedeutung. Desweiteren eröffnet sich durch die *Layer-by-Layer*-Technik eine große Möglichkeit an unterschiedlichsten Kombinationen. Eine Möglichkeit besteht in einer weiteren Kombination des in der Arbeit verwendeten Verfahrens mit der bereits existierenden *Layer-by-Layer*-Beschichtung wie zum Beispiel Acrylase⁷⁴, welches das Problem des Biofoulings mittels „Quorum Quenching“ zusätzlich lösen könnte.

Schlussfolgernd muss gesagt werden, dass die Übertragung der Funktionalisierungsmethoden ebenfalls auf der komplizierten Oberflächengeometrie des Foley-Katheters getestet werden muss. Hierbei muss besonders die Funktionalität des Ballon-Materials bezüglich des Ausdehnens beachtet werden. Abschließend sollten mit den funktionalisierten Kathetern weitere mikrobiologische Langzeitversuche durchgeführt werden.

8 Literaturverzeichnis

- (1) Grohmann, A. N.; Jekel, M.; Szewzyk, R.; Szewzyk, U. *Wasser: Chemie, Mikrobiologie Und Nachhaltige Nutzung*; Walter De Gruyter GmbH & Co. KG: Berlin, 2011.
- (2) Thallinger, B.; Prasetyo, E. N.; Nyanhongo, G. S.; Guebitz, G. M. Antimicrobial Enzymes: An Emerging Strategy to Fight Microbes and Microbial Biofilms. *Biotechnol. J.* **2013**, *8* (1), 97–109.
- (3) Parsek, M. R.; Singh, P. K. Bacterial Biofilms: An Emerging Link to Disease Pathogenesis. *Annu. Rev. Microbiol.* **2003**, *57* (1), 677–701.
- (4) Maki, D. G.; Tambyah, P. A. Engineering out the Risk for Infection with Urinary Catheters. *Emerg. Infect. Dis.* **2001**, *7* (2), 342–347.
- (5) Topal, J.; Conklin, S.; Camp, K.; Morris, V.; Balczak, T.; Herbert, P. Prevention of Nosocomial Catheter-Associated Urinary Tract Infections through Computerized Feedback to Physicians and a Nurse-Directed Protocol. *Am. J. Med. Qual.* **2005**, *20* (3), 121–126.
- (6) Siddiq, D. M.; Darouiche, R. O. New Strategies to Prevent Catheter-Associated Urinary Tract Infections. *Nat. Rev. Urol.* **2012**, *9* (6), 305–314.
- (7) Davenport, K.; Keeley, F. X. Evidence for the Use of Silver-Alloy-Coated Urethral Catheters. *J. Hosp. Infect.* **2005**, *60* (4), 298–303.
- (8) Warren, J. W. Catheter-Associated Urinary Tract Infections. *Int. J. Antimicrob. Agents* **2001**, *17* (4), 299–303.
- (9) Wang, R.; Neoh, K. G.; Kang, E.-T.; Tambyah, P. A.; Chiong, E. Antifouling Coating with Controllable and Sustained Silver Release for Long-Term Inhibition of Infection and Encrustation in Urinary Catheters. *J. Biomed. Mater. Res. Part B Appl. Biomater.* **2014**, *103* (3), 519–528.

-
- (10) Nicolle, L. E. Catheter Associated Urinary Tract Infections. *Antimicrob. Resist. Infect. Control* **2014**, 3 (1), 23.
- (11) Elves, A. W.; Feneley, R. C. Long-Term Urethral Catheterization and the Urine-Biomaterial Interface. *Br. J. Urol.* **1997**, 80 (1), 1–5.
- (12) Lawrence, E. L.; Turner, I. G. Materials for Urinary Catheters: A Review of Their History and Development in the UK. *Med. Eng. Phys.* **2005**, 27 (6), 443–453.
- (13) Spilezewski, K. L.; Anderson, J. M.; Schaap, R. N.; Solomon, D. D. In Vivo Biocompatibility of Catheter Materials. *Biomaterials* **1988**, 9 (3), 253–256.
- (14) Owen, M. J. Why Silicones Behave Funny. *Chim. Nouv.* **2005**, 11, 1–11.
- (15) Lupton, E. M.; Nonnenberg, C.; Frank, I.; Achenbach, F.; Weis, J.; Bräuchle, C. Stretching Siloxanes: An Ab Initio Molecular Dynamics Study. *Chem. Phys. Lett.* **2005**, 414 (1-3), 132–137.
- (16) Colas, A.; Curtis, J. An Introduction to Materials in Medicine. *"Silicone Biomater. Hist. Chem.* **2004**, 80–85, 698–707.
- (17) Flemming, H. C.; Wingender, J. Was Biofilme Zusammenhält. *Chemie Unserer Zeit* **2002**, 36 (1), 30–42.
- (18) Stoodley, P.; Sauer, K.; Davies, D. G.; Costerton, J. W. Biofilms as Complex Differentiated Communities. *Annu. Rev. Microbiol.* **2002**, 56, 187–209.
- (19) Abarzua, S.; Jakubowski, S. Biotechnological Investigation for the Prevention of Biofouling. 1. Biological and Biochemical Principles for the Prevention of Biofouling. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **1995**, 123, 301–312.
- (20) Kristensen, J. B.; Meyer, R. L.; Laursen, B. S.; Shipovskov, S.; Besenbacher, F.; Poulsen, C. H. Antifouling Enzymes and the Biochemistry of Marine Settlement. *Biotechnol. Adv.* **2008**, 26 (5), 471–481.
-

- (21) Waters, C. M.; Bassler, B. L. QUORUM SENSING: Cell-to-Cell Communication in Bacteria. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **2005**, *21* (1), 319–346.
- (22) Wingender, J.; Neu, T. R.; Flemming, H.-C. *Microbial Extracellular Polymeric Substances: Characterization, Structure and Function*; Springer: Berlin, **1999**.
- (23) Bixler, G. D.; Bhushan, B. Biofouling: Lessons from Nature. *Philos. Trans. R. Soc. A Math. Phys. Eng. Sci.* **2012**, *370* (1967), 2381–2417.
- (24) An, Y. H.; Friedman, R. J. Concise Review of Mechanisms of Bacterial Adhesion to Biomaterial Surfaces. *J. Biomed. Mater. Res.* **1998**, *43* (3), 338–348.
- (25) Teughels, W.; Assche, N.; Sliepen, I.; Quirynen, M. Effect of Material Characteristics And/or Surface Topography on Biofilm Development. *Clin. Oral Implants Res.* **2006**, *17* (2), 68–81.
- (26) Decker, J. T.; Kirschner, C. M.; Long, C. J.; Finlay, J. A.; Callow, M. E.; Callow, J. A.; Brennan, A. B. Engineered Antifouling Microtopographies: An Energetic Model That Predicts Cell Attachment. *Langmuir* **2013**, *29* (42), 13023–13030.
- (27) Scardino, A. J.; de Nys, R. Mini Review: Biomimetic Models and Bioinspired Surfaces for Fouling Control. *Biofouling* **2011**, *27* (1), 73–86.
- (28) Gottenbos, B.; Grijpma, D. W.; Mei, H. C. Van Der; Feijen, J.; Busscher, H. J. JAC Antimicrobial Effects of Positively Charged Surfaces on Adhering Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria. *J. Antimicrob. Chemother.* **2001**, *48*, 7–13.
- (29) Chang, Y.; Liao, S. C.; Higuchi, A.; Ruaan, R. C.; Chu, C. W.; Chen, W. Y. A Highly Stable Nonbiofouling Surface with Well-Packed Grafted Zwitterionic Polysulfobetaine for Plasma Protein Repulsion. *Langmuir* **2008**, *24* (10), 5453–5458.
- (30) Cloete, T. E.; Jacobs, L.; Br, V. S. The Chemical Control of Biofouling in Industrial Water Systems. *Biodegradation* **1998**, *9*, 23–37.

- (31) Flemming, H.; Schaule, G. Bekämpfung von Biofouling in Wässrigen Systemen. *Werkstoffe und Korrosion* **1994**, *45*, 40–53.
- (32) Terlizzi, a; Frascchetti, S.; Gianguzza, P.; Faimali, M.; Boero, F. Environmental Impact of Antifouling Technologies: State of the Art and Perspectives. *Aquat. Conserv. Mar. Freshw. Ecosyst.* **2001**, *11* (4), 311–317.
- (33) Chambers, L. D.; Stokes, K. R.; Walsh, F. C.; Wood, R. J. K. Modern Approaches to Marine Antifouling Coatings. *Surf. Coatings Technol.* **2006**, *201* (6), 3642–3652.
- (34) Jose, B.; Antoci, V.; Zeiger, A. R.; Wickstrom, E.; Hickok, N. J. Vancomycin Covalently Bonded to Titanium Beads Kills Staphylococcus Aureus. *Chem. Biol.* **2005**, *12* (9), 1041–1048.
- (35) Kim, J. S.; Kuk, E.; Yu, K. N.; Kim, J. H.; Park, S. J.; Lee, H. J.; Kim, S. H.; Park, Y. K.; Park, Y. H.; Hwang, C. Y.; et al. Antimicrobial Effects of Silver Nanoparticles. *Nanomedicine Nanotechnology, Biol. Med.* **2007**, *3* (1), 95–101.
- (36) Marambio-Jones, C.; Hoek, E. M. V. A Review of the Antibacterial Effects of Silver Nanomaterials and Potential Implications for Human Health and the Environment. *J. Nanoparticle Res.* **2010**, *12* (5), 1531–1551.
- (37) Feng, Q. L.; Wu, J.; Chen, G. Q.; Cui, F. Z.; Kim, T. N.; Kim, J. O. A Mechanistic Study of the Antibacterial Effect of Silver Ions on Escherichia Coli and Staphylococcus Aureus. *J. Biomed. Mater. Res.* **2000**, *52*, 662–668.
- (38) Jeon, S. .; Andrade, J. . Protein—surface Interactions in the Presence of Polyethylene Oxide. *J. Colloid Interface Sci.* **1991**, *142* (1), 159–166.
- (39) Hucknall, A.; Rangarajan, S.; Chilkoti, A. In Pursuit of Zero: Polymer Brushes That Resist the Adsorption of Proteins. *Adv. Mater.* **2009**, *21* (23), 2441–2446.

- (40) Chapman, R. G.; Ostuni, E.; Takayama, S.; Holmlin, R. E.; Yan, L.; Whitesides, G. M. Surverying for Surfaces That Resist the Absorption of Proteins. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122* (16), 8303–8304.
- (41) Banerjee, I.; Pangule, R. C.; Kane, R. S. Antifouling Coatings: Recent Developments in the Design of Surfaces That Prevent Fouling by Proteins, Bacteria, and Marine Organisms. *Adv. Mater.* **2011**, *23* (6), 690–718.
- (42) Schlenoff, J. B. Zwitteration: Coating Surfaces with Zwitterionic Functionality to Reduce Nonspecific Adsorption. *Langmuir* **2014**, *30* (32), 9625–9636.
- (43) Chen, H.; Yuan, L.; Song, W.; Wu, Z.; Li, D. Biocompatible Polymer Materials: Role of Protein–surface Interactions. *Prog. Polym. Sci.* **2008**, *33* (11), 1059–1087.
- (44) Ishihara, K.; Ueda, T.; Nakabayashi, N. Preparation of Phospholipid Polymers and Their Properties as Polymer Hydrogel Membranes. *Polymer Journal.* **1990**, 355–360.
- (45) Zheng, J.; Li, L.; Tsao, H.-K.; Sheng, Y.-J.; Chen, S.; Jiang, S. Strong Repulsive Forces between Protein and Oligo (ethylene Glycol) Self-Assembled Monolayers: A Molecular Simulation Study. *Biophys. J.* **2005**, *89* (1), 158–166.
- (46) Yang, W. J.; Neoh, K.-G.; Kang, E.-T.; Teo, S. L.-M.; Rittschof, D. Polymer Brush Coatings for Combating Marine Biofouling. *Prog. Polym. Sci.* **2014**, *39* (5), 1017–1042.
- (47) Mi, L.; Jiang, S. Integrated Antimicrobial and Nonfouling Zwitterionic Polymers. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2014**, *53* (7), 1746–1754.
- (48) Shao, Q.; Mi, L.; Han, X.; Bai, T.; Liu, S.; Li, Y.; Jiang, S. Differences in Cationic and Anionic Charge Densities Dictate Zwitterionic Associations and Stimuli Responses. *J. Phys. Chem. B* **2014**, *118* (24), 6956–6962.
- (49) Kudaibergenov, S.; Jaeger, W.; Laschewsky, A. Polymeric Betaines: Synthesis, Characterization, and Application. *Adv. Polym. Sci.* **2006**, *201* (1), 157–224.

- (50) Leng, C.; Han, X.; Shao, Q.; Zhu, Y.; Li, Y.; Jiang, S.; Chen, Z. In Situ Probing of the Surface Hydration of Zwitterionic Polymer Brushes: Structural and Environmental Effects. *J. Phys. Chem. C* **2014**, *118* (29), 15840–15845.
- (51) Shao, Q.; Jiang, S. Effect of Carbon Spacer Length on Zwitterionic Carboxybetaines. *J. Phys. Chem. B* **2013**, *117* (5), 1357–1366.
- (52) Kim, Y. D.; Dordick, J. S.; Clark, D. S. Siloxane-Based Biocatalytic Films and Paints for Use as Reactive Coatings. *Biotechnol. Bioeng.* **2001**, *72* (4), 475–482.
- (53) Leskovac, V.; Trivić, S.; Wohlfahrt, G.; Kandrač, J.; Peričin, D. Glucose Oxidase from *Aspergillus Niger*: The Mechanism of Action with Molecular Oxygen, Quinones, and One-Electron Acceptors. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **2005**, *37* (4), 731–750.
- (54) Müller, D. Oxidation von Glukose Mit Extrakten Aus *Aspegillus Niger*. *Biochem. Z.* **1928**.
- (55) Thallinger, B.; Brandauer, M.; Burger, P.; Sygmund, C.; Ludwig, R.; Ivanova, K.; Kun, J.; Scaini, D.; Burnet, M.; Tzanov, T.; Nyanhongo, G. S.; Guebitz, G. M. Cellobiose Dehydrogenase Functionalized Urinary Catheter as Novel Antibiofilm System. *J. Biomed. Mater. Res. Part B Appl. Biomater.* **2015**, *8*, 1–9.
- (56) Pricelius, S.; Ludwig, R.; Lant, N.; Haltrich, D.; Guebitz, G. M. Substrate Specificity of *Myriococcum Thermophilum* Cellobiose Dehydrogenase on Mono-, Oligo-, and Polysaccharides Related to in Situ Production of H₂O₂. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2009**, *85* (1), 75–83.
- (57) *Novel Approaches for Prevention and Degeneration of Pathogenic Bacteria Biofilms Formed on Medical Devices E.g. Catheters*; Seventh Framework Programme, **2011**.
- (58) Lin, Y. H.; Xu, J. L.; Hu, J.; Wang, L. H.; Leong Ong, S.; Renton Leadbetter, J.; Zhang, L. H. Acyl-Homoserine Lactone Acylase from *Ralstonia* Strain XJ12B Represents a Novel and Potent Class of Quorum-Quenching Enzymes. *Mol. Microbiol.* **2003**, *47* (3), 849–860.

- (59) Hong, K.-W.; Koh, C.-L.; Sam, C.-K.; Yin, W.-F.; Chan, K.-G. Quorum Quenching Revisited—From Signal Decays to Signalling Confusion. *Sensors* **2012**, *12* (12), 4661–4696.
- (60) Ferreira, L.; Zumbuehl, A. Non-Leaching Surfaces Capable of Killing Microorganisms on Contact. *J. Mater. Chem.* **2009**, *19* (42), 7796–7806.
- (61) Lewis, K.; Klivanov, A. M. Surpassing Nature: Rational Design of Sterile-Surface Materials. *Trends Biotechnol.* **2005**, *23* (7), 343–348.
- (62) Klivanov, A. M. Permanently Microbicidal Materials Coatings. *J. Mater. Chem.* **2007**, *17* (24), 2479.
- (63) Waschinski, C. J.; Herdes, V.; Schueler, F.; Tiller, J. C. Influence of Satellite Groups on Telechelic Antimicrobial Functions of Polyoxazolines. *Macromol. Biosci.* **2005**, *5*, 149–156.
- (64) Buffet-Bataillon, S.; Tattevin, P.; Bonnaure-Mallet, M.; Jolivet-Gougeon, A. Emergence of Resistance to Antibacterial Agents: The Role of Quaternary Ammonium Compounds - A Critical Review. *Int. J. Antimicrob. Agents* **2012**, *39* (5), 381–389.
- (65) Ha, U.-S.; Cho, Y.-H. Catheter-Associated Urinary Tract Infections: New Aspects of Novel Urinary Catheters. *Int. J. Antimicrob. Agents* **2006**, *28* (6), 485–490.
- (66) Cho, Y. W.; Park, J. H.; Kim, S. H.; Cho, Y.-H.; Choi, J. M.; Shin, H. J.; Bae, Y. H.; Chung, H.; Jeong, S. Y.; Kwon, I. C. Gentamicin-Releasing Urethral Catheter for Short-Term Catheterization. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* **2003**, *14* (9), 963–972.
- (67) Darouiche, R. O.; Smith, J. A.; Hanna, H.; Dhabuwala, C. B.; Steiner, M. S.; Babaian, R. J.; Boone, T. B.; Scardino, P. T.; Thornby, J. I.; Raad, I. I. Efficacy of Antimicrobial-Impregnated Bladder Catheters in Reducing Catheter-Associated Bacteriuria: A Prospective, Randomized, Multicenter Clinical Trial. *Urology* **1999**, *54* (6), 976–981.

- (68) Yu, L. Yu.; Shen, H. M.; Xu, Z. L. PVDF–TiO₂ Composite Hollow Fiber Ultrafiltration Membranes Prepared by TiO₂ Sol–Gel Method and Blending Method. *J. Appl. Phys.* **2009**, *113*, 1763–1772.
- (69) Regev-Shoshani, G.; Ko, M.; Crowe, A.; Av-Gay, Y. Comparative Efficacy of Commercially Available and Emerging Antimicrobial Urinary Catheters against Bacteriuria Caused by E. Coli in Vitro. *Urology* **2011**, *78* (2), 334–340.
- (70) Lellouche, J.; Kahana, E.; Elias, S.; Gedanken, A.; Banin, E. Antibiofilm Activity of Nanosized Magnesium Fluoride. *Biomaterials* **2009**, *30* (30), 5969–5978.
- (71) Applerot, G.; Abu-Mukh, R.; Irzh, A.; Charmet, J.; Keppner, H.; Laux, E.; Guibert, G.; Gedanken, a. Decorating Parylene-Coated Glass with ZnO Nanoparticles for Antibacterial Applications: A Comparative Study of Sonochemical, Microwave, and Microwave-Plasma Coating Routes. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2010**, *2* (4), 1052–1059.
- (72) Lellouche, J.; Friedman, A.; Lahmi, R.; Gedanken, A.; Banin, E. Antibiofilm Surface Functionalization of Catheters by Magnesium Fluoride Nanoparticles. *Int. J. Nanomedicine* **2012**, *7*, 1175–1188.
- (73) Pugach, J. L.; DiTizio, V.; Mittelman, M. W.; Bruce, A. W.; DiCosmo, F.; Khoury, A. E. Antibiotic Hydrogel Coated Foley Catheters for Prevention of Urinary Tract Infection in a Rabbit Model. *J. Urol.* **1999**, *162* (3), 883–887.
- (74) Ivanova, K.; Fernandes, M. M.; Mendoza, E.; Tzanov, T. Enzyme Multilayer Coatings Inhibit Pseudomonas Aeruginosa Biofilm Formation on Urinary Catheters. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2015**, *99* (10), 4373–4385.
- (75) Schwartz, D. K. Langmuir-Blodgett Film Structure. *Surf. Sci. Rep.* **1997**, *27* (7-8), 245–334.

- (76) Freij-Larsson, C.; Nylander, T.; Jannasch, P.; Wesslén, B. Adsorption Behaviour of Amphiphilic Polymers at Hydrophobic Surfaces: Effects on Protein Adsorption. *Biomaterials* **1996**, *17* (22), 2199–2207.
- (77) Koltzenburg, Sebastian Maskos, Michael Nuyken, O. *Polymere: Synthese, Eigenschaften Und Anwendungen*; Springer Spektrum: Heidelberg, 2014.
- (78) Ruckenstein, E.; Byungip Chung, D. Surface Modification by a Two-Liquid Process Deposition of A–B Block Copolymers. *J. Colloid Interface Sci.* **1988**, *123* (1), 170–185.
- (79) Li, Z. F.; Ruckenstein, E. Two Liquid Adsorptive Entrapment of a Pluronic Polymer into the Surface of Polyaniline Films. *J. Colloid Interface Sci.* **2003**, *264* (2), 370–377.
- (80) Luzinov, I.; Minko, S.; Tsukruk, V. V. Adaptive and Responsive Surfaces through Controlled Reorganization of Interfacial Polymer Layers. *Prog. Polym. Sci.* **2004**, *29* (7), 635–698.
- (81) Berndt, E.; Behnke, S.; Ulbricht, M. Influence of Alkyl Chain Length and Molecular Weight on the Surface Functionalization via Adsorption/entrapment with Biocidal Cationic Block Copolymers. *Eur. Polym. J.* **2011**, *47* (12), 2379–2390.
- (82) Guo, H.; Ulbricht, M. The Effects of (macro)molecular Structure on Hydrophilic Surface Modification of Polypropylene Membranes via Entrapment. *J. Colloid Interface Sci.* **2010**, *350* (1), 99–109.
- (83) Guo, H.; Ulbricht, M. Surface Modification of Polypropylene Microfiltration Membrane via Entrapment of an Amphiphilic Alkyl Oligoethyleneglycolether. *J. Memb. Sci.* **2010**, *349* (1-2), 312–320.
- (84) Iler, R. K. Multilayers of Colloidal Particles. *J. Colloid Interface Sci.* **1966**, *21* (6), 569–594.

- (85) Lvov, Y.; Decher, G.; Moehwald, H. Assembly, Structural Characterization, and Thermal Behavior of Layer-by-Layer Deposited Ultrathin Films of Poly (vinyl Sulfate) and Poly (allylamine). *Langmuir* **1993**, *9* (5), 481–486.
- (86) Lvov, Y.; Decher, G.; Sukhorukov, G. Assembly of Thin Films by Means of Successive Deposition of Alternate Layers of DNA and Poly(allylamine). *Macromolecules* **1993**, *26* (20), 5396–5399.
- (87) Ai, H.; Jones, S. A.; Lvov, Y. M. Biomedical Applications of Electrostatic Layer-by-Layer Nano-Assembly of Polymers, Enzymes, and Nanoparticles. *Cell Biochem. Biophys.* **2003**, *39* (1), 23–43.
- (88) Farhat, T. R.; Hammond, P. T. Designing a New Generation of Proton-Exchange Membranes Using Layer-by-Layer Deposition of Polyelectrolytes. *Adv. Funct. Mater.* **2005**, *15*, 945–954.
- (89) Yu, A.; Liang, Z.; Caruso, F. Enzyme Multilayer-Modified Porous Membranes as Biocatalysts. *Chem. Mater.* **2005**, *17* (1), 171–175.
- (90) Nolte, A. J.; Rubner, M. F.; Cohen, R. E. Creating Effective Refractive Index Gradients within Polyelectrolyte Multilayer Films: Molecularly Assembled Rugate Filters. *Langmuir* **2004**, *20* (8), 3304–3310.
- (91) Zhang, X.; Chen, H.; Zhang, H. Layer-by-Layer Assembly: From Conventional to Unconventional Methods. *Chem. Commun.* **2007**, No. 14, 1395–1405.
- (92) Glinel, K.; Moussa, A.; Jonas, A. M.; Laschewsky, A. Influence of Polyelectrolyte Charge Density on the Formation of Multilayers of Strong Polyelectrolytes at Low Ionic Strength. *Langmuir* **2002**, *18* (4), 1408–1412.
- (93) Schoeler, B.; Kumaraswamy, G.; Caruso, F. Investigation of the Influence of Polyelectrolyte Charge Density on the Growth of Multilayer Thin Films Prepared by the Layer-by-Layer Technique. *Macromolecules* **2002**, *35* (3), 889–897.

- (94) Dodoo, S.; Steitz, R.; Laschewsky, a; von Klitzing, R. Effect of Ionic Strength and Type of Ions on the Structure of Water Swollen Polyelectrolyte Multilayers. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2011**, *13* (21), 10318–10325.
- (95) Sui, Z.; Salloum, D.; Schlenoff, J. B. Effect of Molecular Weight on the Construction of Polyelectrolyte Multilayers: Stripping versus Sticking. *Langmuir* **2003**, *19* (16), 2491–2495.
- (96) Dubas, S. T.; Schlenoff, J. B. Factors Controlling the Growth of Polyelectrolyte Multilayers. *Macromolecules* **1999**, *32* (24), 8153–8160.
- (97) Büscher, K.; Graf, K.; Ahrens, H.; Helm, C. A. Influence of Adsorption Conditions on the Structure of Polyelectrolyte Multilayers. *Langmuir* **2002**, *18* (9), 3585–3591.
- (98) Shiratori, S. S.; Rubner, M. F. pH-Dependent Thickness Behavior of Sequentially Adsorbed Layers of Weak Polyelectrolytes. *Macromolecules* **2000**, *33* (11), 4213–4219.
- (99) Wang, J. S.; Matyjaszewski, K. Controlled/“living” Radical Polymerization. Atom Transfer Radical Polymerization in the Presence of Transition-Metal Complexes. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117* (6), 5614–5615.
- (100) Kato, M.; Kamigaito, M.; Sawamoto, M.; Higashimura, T. Polymerization of Methyl Methacrylate with the Carbon Tetrachloride/Dichlorotris-(triphenylphosphine)ruthenium(II)/Methylaluminum Bis(2,6-Di-Tert-Butylphenoxide) Initiating System: Possibility of Living Radical Polymerization. *Macromolecules* **1995**, *28* (5), 1721–1723.
- (101) Matyjaszewski, K. Atom Transfer Radical Polymerization (ATRP): Current Status and Future Perspectives. *Macromolecules* **2012**, *45* (10), 4015–4039.
- (102) Fischer, H. The Persistent Radical Effect in Controlled Radical. *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* **1999**, *37*, 1885–1901.

- (103) Teodorescu, M.; Matyjaszewski, K. Atom Transfer Radical Polymerization of (Meth)acrylamides. *Macromolecules* **1999**, *32* (15), 4826–4831.
- (104) Matyjaszewski, K.; Xia, J. Atom Transfer Radical Polymerization. *Chem. Rev.* **2001**, *101* (9), 2921–2990.
- (105) Treloar, L. R. G. *The Physics of Rubber Elasticity*, Third Edit.; Clarendon Press: Oxford, **1975**.
- (106) Lowe, A. B.; Vamvakaki, M.; Wassall, M. A.; Wong, L.; Billingham, N. C.; Armes, S. P.; Lloyd, A. W. Well-Defined Sulfobetaine-Based Statistical Copolymers as Potential Antibioadherent Coatings. *J. Biomed. Mater. Res.* **2000**, *52* (1), 88–94.
- (107) Lowe, A. B.; Billingham, N. C.; Armes, S. P. Synthesis and Properties of Low-Polydispersity Poly(sulfopropylbetaine)s and Their Block Copolymers. *Macromolecules* **1999**, *32* (7), 2141–2148.
- (108) Jiang, W.; Irgum, K. Synthesis and Evaluation of Polymer-Based Zwitterionic Stationary Phases for Separation of Ionic Species. *Anal. Chem.* **2001**, *73* (9), 1993–2003.
- (109) Berndt, E.; Behnke, S.; Dannehl, A.; Gajda, A.; Wingender, J.; Ulbricht, M. Functional Coatings for Anti-Biofouling Applications by Surface Segregation of Block Copolymer Additives. *Polymer (Guildf)*. **2010**, *51* (25), 5910–5920.
- (110) McPherson, T.; Kidane, A.; Szleifer, I.; Park, K. Prevention of Protein Adsorption by Tethered Poly(ethylene Oxide) Layers: Experiments and Single-Chain Mean-Field Analysis. *Langmuir* **1998**, *14* (1), 176–186.
- (111) Sui, G.; Wang, J.; Lee, C.; Lu, W.; Lee, S. P.; Leyton, J. V.; Wu, A. M.; Tseng, H. Solution-Phase Surface Modification in Intact Poly(dimethylsiloxane) Microfluidic Channels. *Anal. Chem.* **2005**, *78* (18), 11100–11107.

- (112) Chung, S. H.; Min, J. Morphological Investigations of Cells That Adhered to the Irregular Patterned Polydimethylsiloxane (PDMS) Surface without Reagents. *Ultramicroscopy* **2009**, *109* (8), 861–867.
- (113) Decher, G.; Hong, J. D.; Schmitt, J. Buildup of Ultrathin Multilayer Films by a Self-Assembly Process: III. Consecutively Alternating Adsorption of Anionic and Cationic Polyelectrolytes on Charged Surfaces. *Thin Solid Films* **1992**, *210* (211), 831–835.
- (114) Ram, M. K.; Bertoncello, P.; Ding, H.; Paddeu, S.; Nicolini, C. Cholesterol Biosensors Prepared by Layer-by-Layer Technique. *Biosens. Bioelectron.* **2001**, *16* (9-12), 849–856.
- (115) Protá, G.; Ponsiglione, E. On the Reaction of Ninhydrin with Cysteine and its Analogues. *Tetrahedron* **1973**, *29*, 4271–4274.
- (116) Elias, H.-G. *Makromoleküle, Band 1: Chemische Struktur Und Synthesen; Überarbeitete, 6. vollständig, Auflage, Eds.; Wiley-VCH Verlag, 1999.*
- (117) Schwuger, M. J. *Lehrbuch Der Grenzflächenchemie*; Georg Thieme Verlag: Stuttgart, 1996.
- (118) Möckel, D.; Staude, E.; Dal-Cin, M.; Darcovich, K.; Guiver, M. Tangential Flow Streaming Potential Measurements: Hydrodynamic Cell Characterization and Zeta Potentials of Carboxylated Polysulfone Membranes. *J. Memb. Sci.* **1998**, *145* (2), 211–222.
- (119) Aktins, P. W.; de Paula, J. *Physikalische Chemie*; Wiley-VCH Verlag: Weinheim, **2006**.
- (120) Lettmann, C.; Möckel, D.; Staude, E. Permeation and Tangential Flow Streaming Potential Measurements for Electrokinetic Characterization of Track-Etched Microfiltration Membranes. *J. Memb. Sci.* **1999**, *159*, 243–251.
- (121) Egelhoff, W. F. Core-Level Binding-Energy Shifts at Surfaces and in Solids. *Surf. Sci. Rep.* **1987**, *6* (6-8), 253–415.

- (122) Smith, P. K.; Krohn, R. I.; Hermanson, G. T.; Mallia, A. K.; Gartner, F. H.; Provenzano, M. D.; Fujimoto, E. K.; Goeke, N. M.; Olson, B. J.; Klenk, D. C. Measurement of Protein Using Bicinchoninic Acid. *Anal. Biochem.* **1985**, *150* (1), 76–85.
- (123) Wei, Q.; Li, B.; Yi, N.; Su, B.; Yin, Z.; Zhang, F.; Li, J.; Zhao, C. Improving the Blood Compatibility of Material Surfaces via Biomolecule-Immobilized Mussel-Inspired Coatings. *J. Biomed. Mater. Res. - Part A* **2011**, *96 A* (1), 38–45.
- (124) Cai, K.; Frant, M.; Bossert, J.; Hildebrand, G.; Liefeth, K.; Jandt, K. D. Surface Functionalized Titanium Thin Films: Zeta-Potential, Protein Adsorption and Cell Proliferation. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **2006**, *50* (1), 1–8.
- (125) Sibarani, J.; Takai, M.; Ishihara, K. Surface Modification on Microfluidic Devices with 2-Methacryloyloxyethyl Phosphorylcholine Polymers for Reducing Unfavorable Protein Adsorption. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **2007**, *54* (1), 88–93.
- (126) Krondorfer, I.; Lipp, K.; Brugger, D.; Staudigl, P.; Sygmund, C.; Haltrich, D.; Peterbauer, C. K. Engineering of Pyranose Dehydrogenase for Increased Oxygen Reactivity. *PLoS One* **2014**, *9* (3), 1–9.
- (127) Zhou, M.; Diwu, Z.; Panchuk-Voloshina, N.; Haugland, R. P. A Stable Nonfluorescent Derivative of Resorufin for the Fluorometric Determination of Trace Hydrogen Peroxide: Applications in Detecting the Activity of Phagocyte NADPH Oxidase and Other Oxidases. *Anal. Biochem.* **1997**, *253* (2), 162–168.
- (128) Zhu, A.; Romero, R.; Petty, H. R. A Sensitive Fluorimetric Assay for Pyruvate. *Anal. Biochem.* **2010**, *396* (1), 146–151.
- (129) Li, X.; Yan, Z.; Xu, J. Quantitative Variation of Biofilms among Strains in Natural Populations of *Candida Albicans*. *Microbiology* **2003**, *149* (2), 353–362.
- (130) Christensen, G. D.; Simpson, W. a.; Younger, J. J.; Baddour, L. M.; Barrett, F. F.; Melton, D. M.; Beachey, E. H. Adherence of Coagulase-Negative Staphylococci to

- Plastic Tissue Culture Plates: A Quantitative Model for the Adherence of Staphylococci to Medical Devices. *J. Clin. Microbiol.* **1985**, 22 (6), 996–1006.
- (131) Netuschil, L.; Reich, E.; Unteregger, G.; Sculean, A.; Brex, M. A Pilot Study of Confocal Laser Scanning Microscopy for the Assessment of Undisturbed Dental Plaque Vitality and Topography. *Arch. Oral Biol.* **1998**, 43 (4), 277–285.
- (132) Berndt, E. M. Schaltbare Und Biozide Antibiofouling- Beschichtungen Durch Funktionale Block- Und Pfropfcopolymere Mit Definierter Architektur, **2010**.
- (133) Singh, H. N.; Singh, S.; Tewari, K. C. Surface Active Anions in Polar Solvents: I. Conductometric Studies on Solutions of Sodium Decyl and Dodecyl Sulphate in Water, N,N-Dimethylformamide, and Dimethyl Sulfoxide. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1975**, 52 (c), 436–438.
- (134) Singh, H. N.; Saleem, S. M.; Singh, R. P.; Birdi, K. S. Micelle Formation of Ionic Surfactants in Polar Nonaqueous Solvents. *J. Phys. Chem.* **1980**, 84, 2191–2194.
- (135) Hesse, M.; Meier, H.; Zeeh, B. *Spektroskopische Methoden in Der Organischen Chemie*; Thieme: Stuttgart, 2005.
- (136) Archibald, D. D.; Qadri, S. B.; Gaber, B. P. Modified Calcite Deposition Due to Ultrathin Organic Films on Silicon Substrates. *Langmuir* **1996**, 12 (2), 538–546.
- (137) Ben Soltane, H.; Roizard, D.; Favre, E. Effect of Pressure on the Swelling and Fluxes of Dense PDMS Membranes in Nanofiltration: An Experimental Study. *J. Memb. Sci.* **2013**, 435, 110–119.
- (138) Wang, J.; Li, Y.; Zhang, Z.; Hao, Z. Mesoporous KIT-6 Silica–polydimethylsiloxane (PDMS) Mixed Matrix Membranes for Gas Separation. *J. Mater. Chem. A* **2015**, 3 (16), 8650–8658.

- (139) Keefe, A. J.; Brault, N. D.; Jiang, S. Suppressing Surface Reconstruction of Superhydrophobic PDMS Using a Superhydrophilic Zwitterionic Polymer. *Biomacromolecules* **2012**, *13* (5), 1683–1687.
- (140) Eddington, D. T.; Puccinelli, J. P.; Beebe, D. J. Thermal Aging and Reduced Hydrophobic Recovery of Polydimethylsiloxane. *Sensors Actuators, B Chem.* **2006**, *114* (1), 170–172.
- (141) Papra, A.; Bernard, A.; Juncker, D.; Larsen, N. B.; Michel, B.; Delamarche, E. Microfluidic Networks Made of Poly(dimethylsiloxane), Si, and Au Coated with Polyethylene Glycol for Patterning Proteins onto Surfaces. *Langmuir* **2001**, *17* (13), 4090–4095.
- (142) Foerster, S.; Zisenis, M.; Wenz, E.; Antonietti, M. Micellization of Strongly Segregated Block Copolymers. *J. Chem. Phys.* **1996**, *104* (24), 9956–9970.
- (143) Moffitt, M.; Khougaz, K.; Eisenberg, a. Micellization of Ionic Block Copolymers. *Acc. Chem. Res.* **1996**, *29* (2), 95–102.
- (144) Lenoir, S.; Pagnouille, C.; Detrembleur, C.; Galleni, M.; Jérôme, R. New Antibacterial Cationic Surfactants Prepared by Atom Transfer Radical Polymerization. *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* **2006**, *44* (3), 1214–1224.
- (145) Kirby, B. J.; Hasselbrink, E. F. Zeta Potential of Microfluidic Substrates: 2. Data for Polymers. *Electrophoresis* **2004**, *25* (2), 203–213.
- (146) Chun, M.-S.; Shim, M. S.; Choi, N. W. Fabrication and Validation of a Multi-Channel Type Microfluidic Chip for Electrokinetic Streaming Potential Devices. *Lab Chip* **2006**, *6* (2), 302–309.
- (147) Yang, Q.; Ulbricht, M. Novel Membrane Adsorbers with Grafted Zwitterionic Polymers Synthesized by Surface-Initiated ATRP and Their Salt-Modulated Permeability and Protein Binding Properties. *Chem. Mater.* **2012**, *24* (15), 2943–2951.

- (148) De Gennes, P. G. Conformations of Polymers Attached to an Interface. *Macromolecules* **1980**, *13* (19), 1069–1075.
- (149) Szleifer, I. Statistical Thermodynamics of Polymers near Surfaces. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **1996**, *1* (3), 416–423.
- (150) Sui, X.; Zapotoczny, S.; Benetti, E. M.; Schön, P.; Vancso, G. J. Characterization and Molecular Engineering of Surface-Grafted Polymer Brushes across the Length Scales by Atomic Force Microscopy. *J. Mater. Chem.* **2010**, *20* (24), 4981.
- (151) Feng, W.; Brash, J.; Zhu, S. Non-Biofouling Materials Prepared by Atom Transfer Radical Polymerization Grafting of 2-Methacryloxyethyl Phosphorylcholine: Separate Effects of Graft Density and Chain Length on Protein Repulsion. *Biomaterials* **2006**, *27* (6), 847–855.
- (152) Lazos, D.; Franzka, S.; Ulbricht, M. Size-Selective Protein Adsorption to Polystyrene Surfaces by Self-Assembled Grafted Poly(ethylene Glycols) with Varied Chain Lengths. *Langmuir* **2005**, *21* (19), 8774–8784.
- (153) Lowe, A. B.; McCormick, C. L. Stimuli Responsive Water-Soluble and Amphiphilic (Co)polymers. *Stimuli-Responsive Water Soluble Amphiphilic Polym.* **2000**, *780*, 1–13.
- (154) Chang, Y.; Chen, S.; Zhang, Z.; Jiang, S. Highly Protein-Resistant Coatings from Well-Defined Diblock Copolymers Containing Sulfobetaines. *Langmuir* **2006**, *22* (5), 2222–2226.
- (155) Zdyrko, B.; Luzinov, I. Polymer Brushes by the “Grafting to” Method. *Macromol. Rapid Commun.* **2011**, *32* (12), 859–869.
- (156) Ionov, L.; Zdyrko, B.; Sidorenko, A.; Minko, S.; Klep, V.; Luzinov, I.; Stamm, M. Gradient Polymer Layers by “Grafting To” Approach. *Macromol. Rapid Commun.* **2004**, *25* (1), 360–365.

- (157) Diaz Blanco, C.; Ortner, A.; Dimitrov, R.; Navarro, A.; Mendoza, E.; Tzanov, T. Building an Antifouling Zwitterionic Coating on Urinary Catheters Using an Enzymatically Triggered Bottom-up Approach. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2014**, *6* (14), 11385–11393.
- (158) Farhat, T. R.; Schlenoff, J. B. Ion Transport and Equilibria in Polyelectrolyte Multilayers. *Langmuir* **2001**, *17* (4), 1184–1192.
- (159) Seyrek, E.; Hierrezuelo, J.; Sadeghpour, A.; Szilagyi, I.; Borkovec, M. Molecular Mass Dependence of Adsorbed Amount and Hydrodynamic Thickness of Polyelectrolyte Layers. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2011**, *13* (28), 12716–12719.
- (160) Steitz, R.; Jaeger, W.; Klitzing, R. Influence of Charge Density and Ionic Strength on the Multilayer Formation of Strong Polyelectrolytes. *Langmuir* **2001**, *17* (15), 4471–4474.
- (161) Hoogeveen, N. G.; Stuart, M. A. C.; Fleer, G. J.; Böhmer, M. R. Formation and Stability of Multilayers of Polyelectrolytes. *Langmuir* **1996**, *12* (15), 3675–3681.
- (162) Hoogeveen, N. G.; Stuart, M. A. C.; Fleer, G. J. Polyelectrolyte Adsorption on Oxides. *J. Colloid Interface Sci.* **1996**, *182* (182), 146–157.
- (163) Lösche, M.; Schmitt, J.; Decher, G.; Bouwman, W. G.; Kjaer, K.; Lo, M. Detailed Structure of Molecularly Thin Polyelectrolyte Multilayer Films on Solid Substrates as Revealed by Neutron Reflectometry. *Macromolecules* **1998**, *31* (25), 8893–8906.
- (164) Farhat, T.; Yassin, G.; Dubas, S. T.; Schlenoff, J. B. Water and Ion Pairing in Polyelectrolyte Multilayers. *Langmuir* **1999**, *15* (12), 6621–6623.
- (165) Lee, W. F.; Chen, C. F. Poly(2-Hydroxyethyl Methacrylate-Co-Sulfobetaine) Hydrogels. II. Synthesis and Swelling Behaviors of the [2-Hydroxyethyl Methacrylate-Co-3-Dimethyl(methacryloyloxyethyl)ammonium Propane Sulfonate] Hydrogels. *J. Appl. Polym. Sci.* **1998**, *69* (10), 2021–2034.

- (166) Shao, Q.; Jiang, S. Influence of Charged Groups on the Properties of Zwitterionic Moieties: A Molecular Simulation Study. *J. Phys. Chem. B* **2014**, *118* (27), 7630–7637.
- (167) Cai, K.; Rechtenbach, A.; Hao, J.; Bossert, J.; Jandt, K. D. Polysaccharide-Protein Surface Modification of Titanium via a Layer-by-Layer Technique: Characterization and Cell Behaviour Aspects. *Biomaterials* **2005**, *26* (30), 5960–5971.
- (168) Guillaume-Gentil, O.; Zahn, R.; Lindhoud, S.; Graf, N.; Voros, J.; Zambelli, T. From Nanodroplets to Continuous Films: How the Morphology of Polyelectrolyte Multilayers Depends on the Dielectric Permittivity and the Surface Charge of the Supporting Substrate. *Soft Matter* **2011**, *7* (8), 3861–3871.
- (169) An, Q.; Li, F.; Ji, Y.; Chen, H. Influence of Polyvinyl Alcohol on the Surface Morphology, Separation and Anti-Fouling Performance of the Composite Polyamide Nanofiltration Membranes. *J. Memb. Sci.* **2011**, *367* (1-2), 158–165.
- (170) Li, X.; Cao, Y.; Kang, G.; Yu, H.; Jie, X.; Yuan, Q. Surface Modification of Polyamide Nanofiltration Membrane by Grafting Zwitterionic Polymers to Improve the Antifouling Property. *J. Appl. Polym. Sci.* **2014**, *131* (23), 1–9.
- (171) Razmjou, A.; Mansouri, J.; Chen, V. The Effects of Mechanical and Chemical Modification of TiO₂ Nanoparticles on the Surface Chemistry, Structure and Fouling Performance of PES Ultrafiltration Membranes. *J. Memb. Sci.* **2011**, *378* (1-2), 73–84.
- (172) Vrijenhoek, E. M.; Hong, S.; Elimelech, M. Influence of Membrane Surface Properties on Initial Rate of Colloidal Fouling of Reverse Osmosis and Nanofiltration Membranes. *J. Memb. Sci.* **2001**, *188* (1), 115–128.
- (173) Ludwig, R.; Harreither, W.; Tasca, F.; Gorton, L. Cellobiose Dehydrogenase: A Versatile Catalyst for Electrochemical Applications. *Chem. Phys. Chem.* **2010**, *11* (13), 2674–2697.

- (174) Bertrand, P.; Jonas, A; Laschewsky, A; Legras, R. Ultrathin Polymer Coatings by Complexation of Polyelectrolytes at Interfaces: Suitable Materials, Structure and Properties. *Macromol. Rapid Commun.* **2000**, 21 (7), 319–348.
- (175) Lipovsky, A.; Thallinger, B.; Perelshtein, I.; Ludwig, R.; Sygmund, C.; Nyanhongo, G. S.; Guebitz, G. M.; Gedanken, A. Ultrasound Coating of Polydimethylsiloxanes with Antimicrobial Enzymes. *J. Mater. Chem. B* **2015**, 3 (35), 7014–7019.
- (176) Murata, H.; Koepsel, R. R.; Matyjaszewski, K.; Russell, A. J. Permanent, Non-Leaching Antibacterial Surfaces-2: How High Density Cationic Surfaces Kill Bacterial Cells. *Biomaterials* **2007**, 28 (32), 4870–4879.
- (177) Liu, Y.; Leng, C.; Chisholm, B.; Stafslie, S.; Majumdar, P.; Chen, Z. Surface Structures of PDMS Incorporated with Quaternary Ammonium Salts Designed for Antibiofouling and Fouling Release Applications. *Langmuir* **2013**, 29 (9), 2897–2905.
- (178) Zhu, X.; Jańczewski, D.; Lee, S. S. C.; Teo, S. L. M.; Vancso, G. J. Cross-Linked Polyelectrolyte Multilayers for Marine Antifouling Applications. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2013**, 5 (13), 5961–5968.

9 Anhang

9.1 IR-Spektren

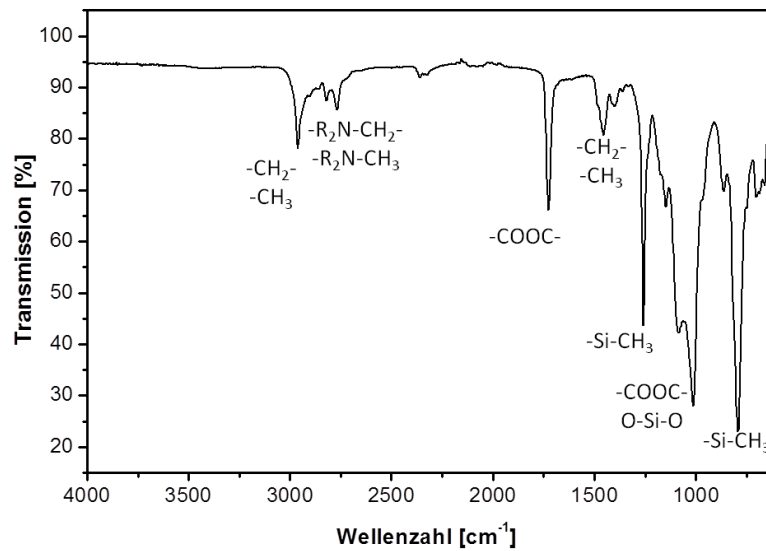


Abbildung 75: Beispiel eines ATR-IR-Spektrums des Polymers PDMS-*b*-PDMAEMA.

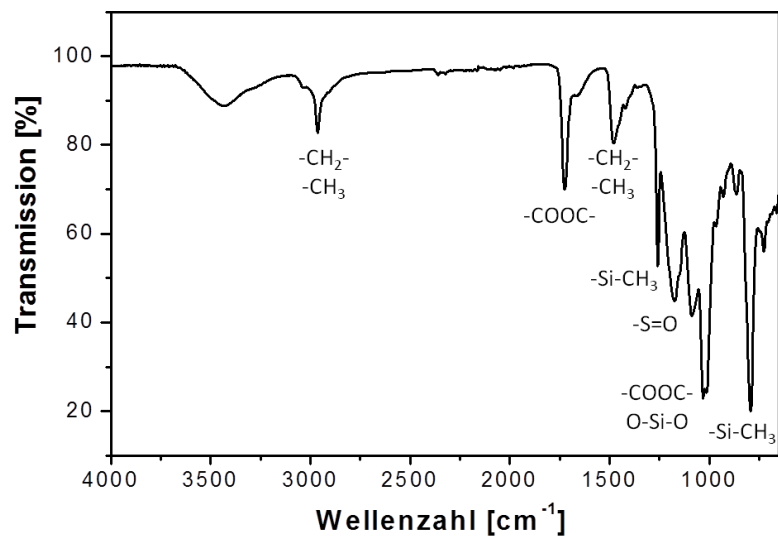


Abbildung 76: Beispiel eines ATR-IR-Spektrums des Polymers PDMS-*b*-PSPE.

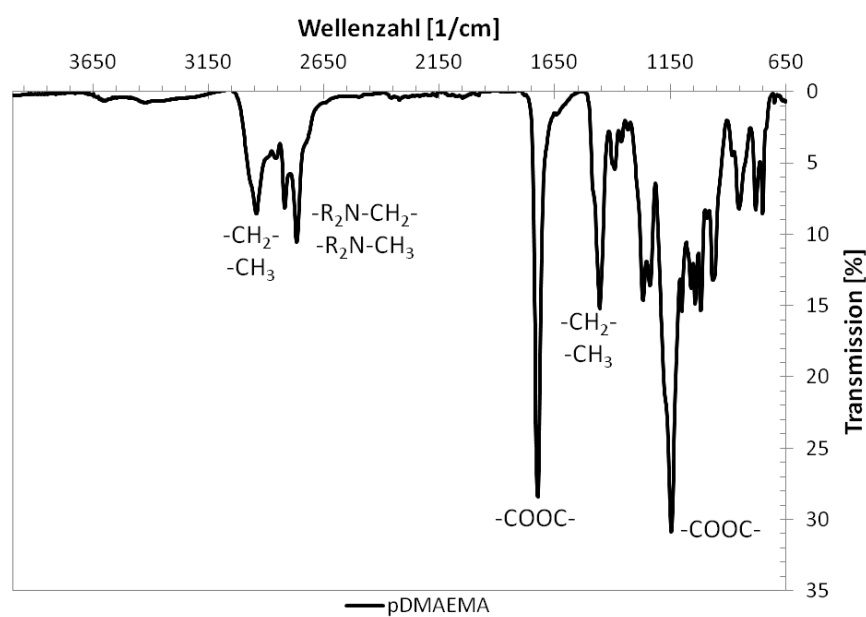
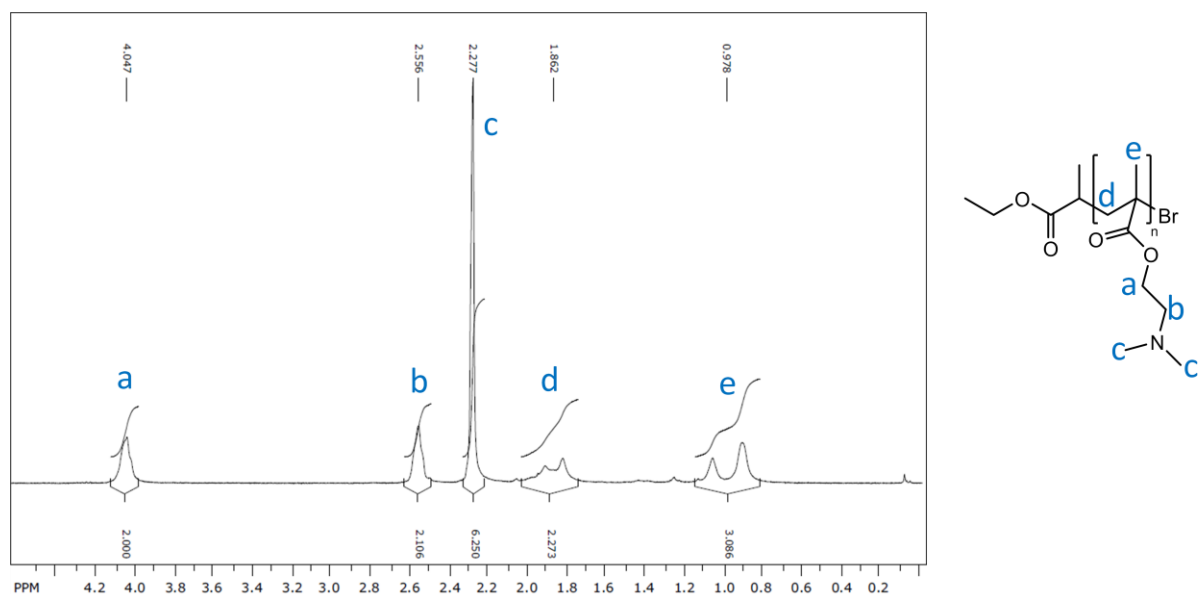


Abbildung 77: Beispiel eines ATR-IR-Spektrums des Polymers PDMAEMA (9).

9.2 NMR-Spektren

Abbildung 78: Beispiel eines ^1H -NMR-Spektrums des Polymers PDMAEMA (9) in CDCl_3 .

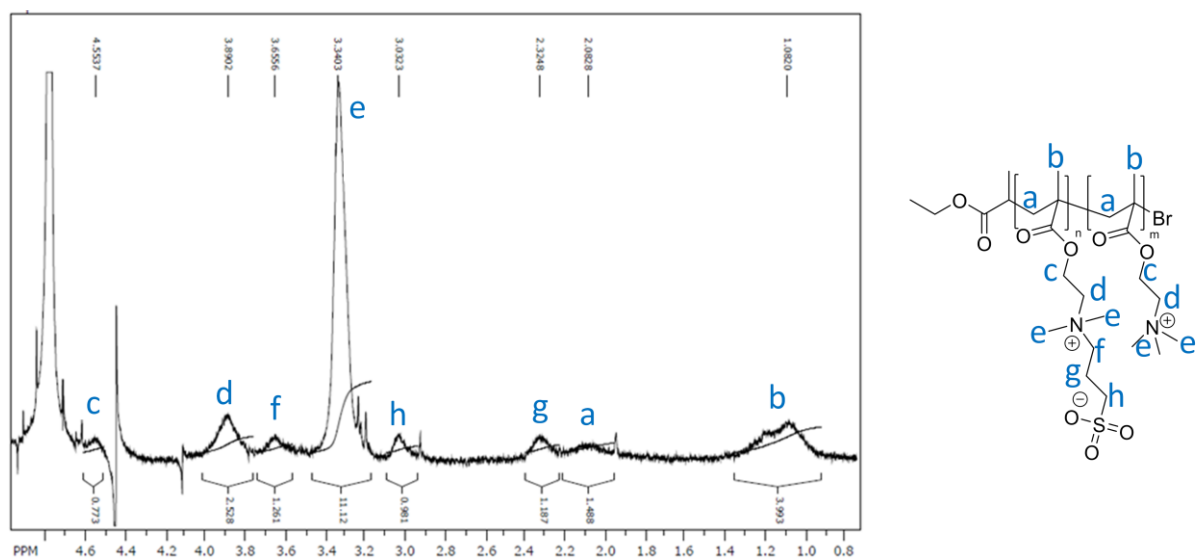


Abbildung 79: ^1H -NMR-Spektrum des PTMAEMA-co-PSPE, gemessen in MeOD.

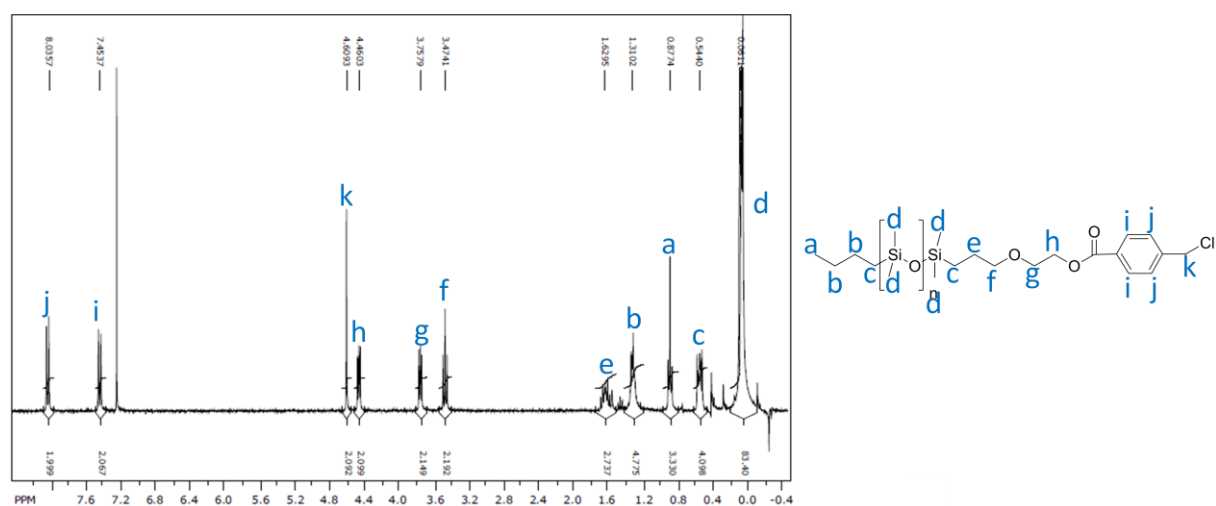


Abbildung 80: ^1H -NMR-Spektrum des Makroinitiators PDMS-Cl, gemessen in CCl_3D .

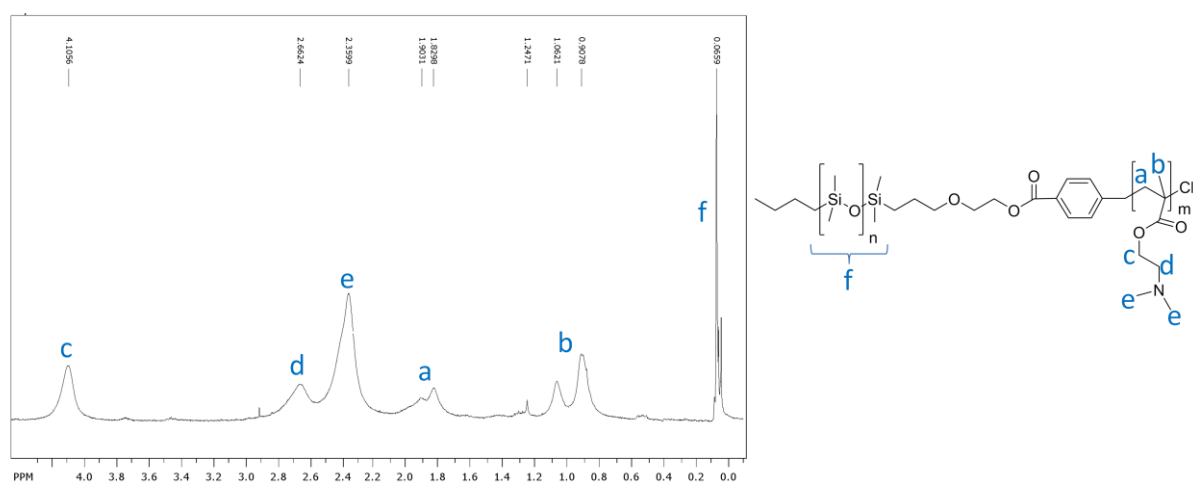


Abbildung 81: ^1H -NMR-Spektrum des PDMS-*b*-PDMAEMA, gemessen in CCl_3D .

9.3 CMC-Messung

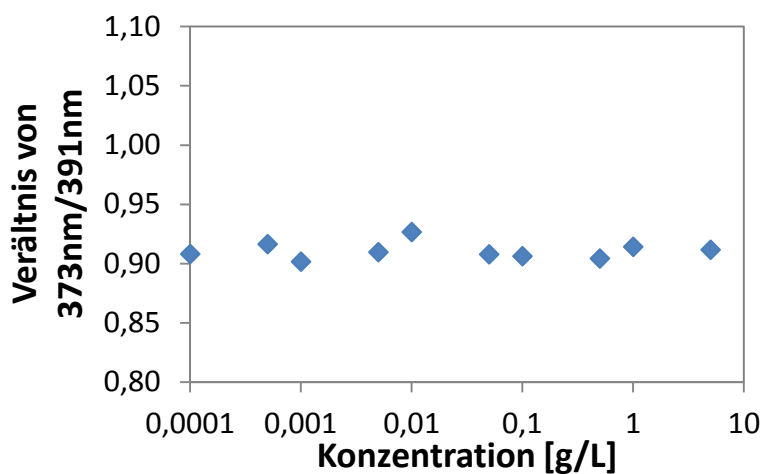


Abbildung 82: Bestimmung der kritischen Mizellen-Konzentration für das amphiphile Block-Copolymer in 1M HCl. Hier exemplarisch am PDMS-co-PSPE₃₀ gezeigt.

9.4 Bewertung der Hansen-Parameter

Tabelle 11: Bewertung von Lösungsmitteln für die Berechnung der Hansen-Löslichkeits-Parameter mit HSPiP Software. Hierbei wurden stark quellende Lösungsmittel mit 1 und Lösungsmittel, welche das Polymer nicht quellen lassen, mit 6 bewertet.

Lösungsmittel	Bewertung	RED	MVol
Chloroform	1	0.45	80.5
THF	2	0.94	81.9
Cyclohexan	3	0.74	108.9
Hexan	3	1.06	131.4
Toluol	4	0.50	106.6
iso-Propanol	5	1.91	76.9
Ethanol	6	2.45	58.6
DMF	6	2.15	77.4
Acetonitril	6	2.66	52.9
Wasser	6	5.82	18

RED = engl. *relative energy distance* und gibt das Verhältnis zwischen dem Radius des Lösungsmittels und dem Radius der berechneten PDMS Sphäre an.

Hansen-Parameter von PDMS besaßen in der Berechnung einen Sphärenradius von 5.3.

9.5 Synthese von PDMS-*b*-PSPE mit PDMS-Cl (5000 g/mol)

Für die Herstellung eines gleichstarken hydrophilen/hydrophoben Gleichgewichtes des amphiphilen Blockcopolymers PDMS-*b*-PSPE, wurde nach der Vorschrift, wie in Kapitel 5.2.1 beschrieben, das Polymer PDMS-*b*-PDMAEMA mit einem größeren PDMS-Anteil synthetisiert. Hierzu wurde das monohydroxyl-terminierte Polydimethylsiloxan mit einer molaren Masse von circa 5000 g/mol von der Firma ABCR verwendet. Die ^1H -NMR-Analyse wies eine Umsetzung von 78 % auf. Das kalkulierte Blockverhältnis von PDMAEMA betrug 45 %.

Durch die Sulfobetainisierung, wie in Kapitel 5.2.3 beschrieben, erfolgte die Synthese des Zwitterions SPE. Das entstandene amphiphile Blockcopolymer war unlöslich in Chloroform, THF, Hexan, Toluol, Ethanol, Methanol, Wasser, gesättigter NaCl-Lösung, THF-Wasser-Gemisch (1:1) und Chloroform-Methanol-Gemisch (1:1), sodass zur Auswertung nur eine IR-Messung diente.

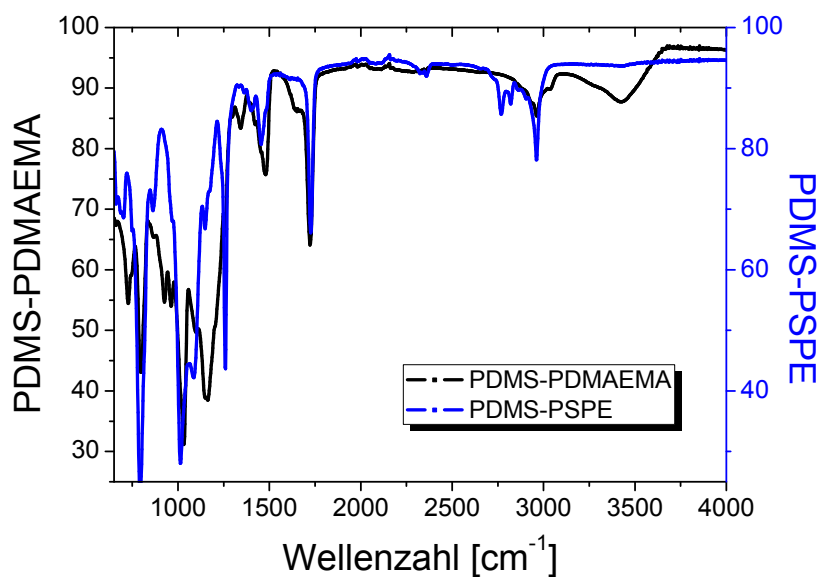


Abbildung 83: ATR-IR-Spektrums des Polymers PDMS-*b*-PDMAEMA und PDMS-*b*-PSPE mit dem Monohydroxyl-terminierten Polydimethylsiloxan (5000 g/mol).

9.6 XPS-Messung von PDMS-Material

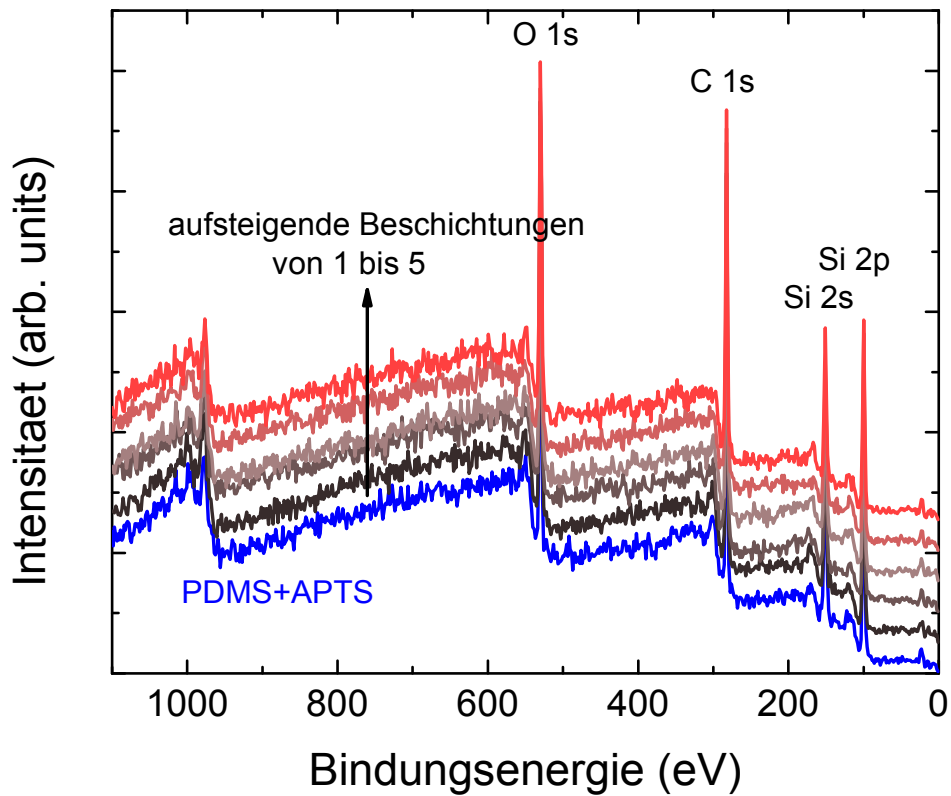


Abbildung 84: Ergebnisse der XPS-Analyse von vormodifiziertem Schlauch Material und nach *Layer-by-Layer*-Beschichtung mit PSS als Polyanion und PTMAEMA als Polykation.

9. 7 *Abbildungsverzeichnis*

Abbildung 1: Schematischer Aufbau eines Blasenkatheters in einer Harnblase ⁶ .	-----3
Abbildung 2: Schematische Darstellung der Biofilmentwicklung. 1) Zellen adhärieren an einer Oberfläche; 2) Transport zur und an der Oberfläche mit reversibler Adhäsion und Produktion extrazellulärer polymerer Substanz; 3) irreversible Adhäsion; 4) Biofilmwachstum, mehrere Schichten übereinander; 5) Alterung und Ablösung einzelner Bestandteile ¹⁸ .	-----6
Abbildung 3: Schematische Darstellung der Antifouling-Beschichtung: Verhinderung der Adhäsion von Bakterien durch gebildete hydratisierte Polymerschicht nach Jeon et al ³⁸ .	--- 11
Abbildung 4: Schematische Abbildung der Funktionsweise des Enzyms Cellulose-Dehydrogenase (CDH), welches spezialisiert an Biofilm Polysacchariden bindet und Wasserstoffperoxid generiert ⁵⁷ .	----- 14
Abbildung 5: Schematische Darstellung der kontaktbioziden Strategie: Penetration des Bakteriums durch hydrophobe quaternierte Monomereinheiten nach Lewis und Klibanov ⁶¹ .	----- 15
Abbildung 6: Schematische Darstellung des Adsorptions-/Entrapment-Prozesses mit amphiphilen Blockcopolymeren.	----- 19
Abbildung 7: Schematische Darstellung der <i>Layer-by-Layer</i> Beschichtungsmethode alternierend mit Polyanionen und Polykationen.	----- 21
Abbildung 8: Allgemeiner Mechanismus der Atomtransfer Radikal Polymerisation (ATRP).	- 23
Abbildung 9: Schematische Darstellung der Adsorption/Entrapment Modifizierung: Zielstruktur des Blockcopolymer mit Antifouling funktionaler Komponente und einem Ankerblock (PDMS).	----- 27
Abbildung 10: Schematische Darstellung der <i>Layer-by-Layer</i> -Modifizierung: Oberflächenvormodifizierung mittels APTS; alternierende Schichten mit unterschiedlichen polymeren Bausteine; Polyanionen: Polystyrolsulfonat (PSS) und Cellobiose Dehydrogenase (CDH)für antibakterieller Beschichtung; Polykationen: neuartige Copolymere (PTMAEMA-co-	

PSPE) bei Variation der Sulfobetain Fraktion und gegebenenfalls Zusatz von quartären hydrophoben Gruppen für Kontakt biozide Strategie	29
Abbildung 11: Dynamisches mechanisches Verhalten von in verschiedenen Lösungsmitteln gequollenem PDMS.	32
Abbildung 12: Reaktionsschema der Makroinitiator-Synthese von PDMS-Cl (3).	34
Abbildung 13: Reaktionsschema der ATRP von DMAEMA an PDMS-Cl (5).	35
Abbildung 14: Reaktionsschema der Betainisierung von PDMAEMA.	37
Abbildung 15: Reaktionsschema der ATRP von DMAEMA (9).	38
Abbildung 16: Reaktionsschema der Betainisierung von PDMAEMA (9).	39
Abbildung 17: Reaktionsschema der Quarternisierung von PDMAEMA-co-PSPE (10) mit Methyljodid (11).	40
Abbildung 18: Reaktionsschema der Quarterinisierung von PDMAEMA-co-PSPE (10) mit Octylbromid (13).	41
Abbildung 19: ^1H -NMR-Spektrum während der ATRP von DMAEMA mit dem Initiator PDMS-Cl nach 4 Stunden Polymerisationszeit.	42
Abbildung 20: ^1H -NMR-Spektrum während der ATRP von DMAEMA mit Initiator Ethyl α -Bromoisobutyrat nach 4 Stunden Polymerisationszeit.	43
Abbildung 21: ^1H -NMR-Spektrum des PDMAEMA-co-PSPE, gemessen in Methanol- d_4	44
Abbildung 22: ^1H -NMR-Spektrum des PDMAEMA-co-PSPE + Oktylrest, gemessen in Methanol- d_4	45
Abbildung 23: Schematische Darstellung der Bestimmung eines Kontaktwinkels mittels „sessile drop“ Methode und „captive bubble“ Methode ¹¹⁶	52
Abbildung 24: Schematische Darstellung des Stern-Modells ¹¹⁹	53
Abbildung 25: Quellungsmessungen, gravimetrisch nach Äquilibrierung von PDMS in verschiedenen Lösungsmittel für 24 Stunden bestimmt.	62
Abbildung 26: Mittlere Maschenweite von in unterschiedlichen Lösungsmittel gequollenden PDMS.	63

Abbildung 27: Mittlere Vernetzungsdichte von in unterschiedlichen Lösungsmittel gequollenden PDMS.	63
Abbildung 28: Ergebnisse der thermogravimetrische Analyse von Ballon und Schlauch Material.	64
Abbildung 29: Zeit-Umsatz-Kurve erster Ordnung für die ATRP von DMAEMA mit PDMS-Cl als Makroinitiator mit Trendlinie, welche den Zeitraum der ersten 5 Stunden umfasst.	66
Abbildung 30: Bestimmung der kritischen Mizellen-Konzentration für PDMS- <i>co</i> -PDMAEMA ₃₀ in DMF.	69
Abbildung 31: Umsatz-Zeit-Kurve erster Ordnung für die ATRP von DMAEMA mit Ethyl- α -Bromoisobutyrat als Initiator mit Trendlinie, welche den Zeitraum der ersten 5 Stunden umfasst.	71
Abbildung 32: Infrarotspektren unterschiedlichen PTMAEMA- <i>co</i> -PSPE. Die obere Abbildung zeigt das IR-Spektrum über den Wellenzahlbereich von 500 – 4000 cm ⁻¹ an. Die untere ist eine Vergrößerung im Bereich zwischen 900 – 1300 cm ⁻¹	74
Abbildung 33: Veränderung des Modifizierungs-Protokolls. Rot unterlegt: Durchführung nach Berndt et al. ⁸¹ . Grün unterlegt: das angepasste Protokoll, wobei die Quellung und der Adsorption/Entrapment Prozess getrennt ablaufen.	76
Abbildung 34: Abhängigkeit des Zeta-Potentials vom pH-Wert für Ballon- und Schlauch-Material funktionalisiert mit unterschiedlich langen Polyzwitterionen Anteilen.	77
Abbildung 35: Kontaktwinkelbestimmung von PDMS, PDMS modifiziert mit den unterschiedlich langen PDMS- <i>b</i> -PSPE Polymeren über einen längeren Zeitraum in 10 mM Azid-Lösung.	79
Abbildung 36: Kontaktwinkelbestimmung von Kathetermaterial, PDMS modifiziert ohne und mit den unterschiedlich langen PDMS- <i>b</i> -PSPE Polymeren über einen längeren Zeitraum in synthetischen Urin.	80
Abbildung 37: Biofilm Formation Messung von Ballon und Schlauch Material im Vergleich zu den unmodifizierten Materialien.	81

Abbildung 38: Adsorbierte Menge an Myoglobin und BSA an unmodifizierte und modifizierte Schlauch Material über 1, 2 und 3 Stunden.	82
Abbildung 39: Schematische Darstellung der Aminosilanisierung von Substraten in wässriger Lösung mit der Organsilanverbindung APTS.	84
Abbildung 40: Ergebnisse der Ellipsometrie-Messungen: Gesamtschichtdicke auf zuvor modifizierten Si-Wafern nach <i>LbL</i> -Beschichtung mit PSS und PTMAEMA-co-PSPE mit variierten zwitterionischen Gruppen in Abhängigkeit von der Anzahl an Schichten.	86
Abbildung 41: Ergebnisse der XPS-Analyse. Gehalt an Kohlenstoff (1s) und SiO ₂ in der Oberfläche von vormodifizierten Si-Wafern und nach <i>Layer-by-Layer</i> -Beschichtung in Abhängigkeit von der Anzahl der einzelnen Schichten mit PSS als Polyanion und PTMAEMA als Polykation.	87
Abbildung 42: Ergebnisse der XPS-Analyse von vormodifizierten Si-Wafern und nach <i>Layer-by-Layer</i> -Beschichtung in Abhängigkeit von der Anzahl der einzelnen Schichten mit PSS als Polyanion und PTMAEMA als Polykation: Oberflächen an Ammonium- (NH ³⁺) und Schwefel- (2p) Gehalt.	88
Abbildung 43: Kontaktwinkelmessungen an Si-Wafer mit PSS und PTMAEMA-co-PSPE mit 0% und 25% zwitterionischen Anteil in einem alternierendem Schichtsystem.	89
Abbildung 44: Kontaktwinkelmessungen an Si-Wafer mit PSS und PTMAEMA-co-PSPE mit 50% zwitterionischen Anteil	90
Abbildung 45: Auftragung der Zeta-Potentiale bei pH-Wert von 6.5 der verschiedenen <i>LbL</i> -Beschichtungen mit den verschiedenen Polykationen auf Si-Wafern gegen die Schichtzahl.	91
Abbildung 46: Ergebnisse der Kontaktwinkelmessungen der einzelnen Schichten an Ballon und Schlauch Material als Polyelektrolyte: PSS und PTMAEMA-co-PSPE mit variierten zwitterionischen Anteil.	92
Abbildung 47: Auftragung der Zeta-Potentiale bei pH-Wert von 6.5 der verschiedenen <i>LbL</i> -Beschichtungen mit den verschiedenen Polykationen auf Ballon und Schlauch Material gegen die Schichtzahl.	94

Abbildung 48: Topographische Bilder der an Luft getrockneten Schlauch Material: a) unmodifiziertes PDMS; b) APTS modifiziertes PDMS; c-d) mittels <i>LbL</i> -modifiziertes PDMS: Beschichtung aus 6 Lagen mit 0% Zwitterionen Anteil (c) und 50% Zwitterionen Anteil (d).- 96	96
Abbildung 49: Topographische Bilder von 6 schichten System mit 50% Zwitterionen Anteil der gleichen Stelle a) Luftgetrocknete b) in Wasser aufgenommen.----- 97	97
Abbildung 50: Einfluss der Trocknungsprozesses auf die topographische Bilder von 6 schichten System mit 50% Zwitterionen Anteil a) in Wasser aufgenommen b) Luft-getrocknet (1 Tag) c) gefriergetrocknet. ----- 97	97
Abbildung 51: Topographische Bilder der an Luft getrockneten Ballon Material: a) unmodifiziertes PDMS; b) APTS modifiziertes PDMS; c-d) mittels <i>LbL</i> -modifiziertes PDMS aus 6 Lagen mit 0% Zwitterionen Anteil (c) und 50% Zwitterionen Anteil (d). ----- 98	98
Abbildung 52: Ergebnisse der Kontaktwinkelmessungen der einzelnen Schichten an Ballon und Schlauch Material als Polyelektrolyte: PSS und PTMAEMA- <i>co</i> -PSPE mit variierten zwitterionischen Anteil und dritte Schicht mit Enzym CDH.----- 100	100
Abbildung 53: Kontaktwinkel-Langzeittest von Ballon-Material in synthetischen Urin und 0.01 M Azid-Lösung für das sechs-Schichten-System mit dem Enzyme CDH in der dritten oder fünften Schicht.----- 101	101
Abbildung 54: Auftragung der Zeta-Potentiale bei pH-Wert von 6.5 der verschiedenen <i>LbL</i> -Beschichtungen mit den verschiedenen Polykationen auf Ballon und Schlauch Material gegen die Schichtzahl mit Immobilisierung von dem Enzym CDH (grün) in der 3 oder 5 Schicht. - 103	103
Abbildung 55: Zeta-Potential der 6-Schichten-System den Polykation mit 25 % zwitterionischen Anteil und der Variation mit 25 % Oktyl-Rest in Abhängigkeit von pH-Wert. ----- 104	104
Abbildung 56: Ergebnisse des <i>BCA</i> Protein Assays. Menge an auf den Träger immobilisiertem Enzym CDH im Vergleich der unterschiedlichen Beschichtungen. ----- 105	105
Abbildung 57: Wasserstoffperoxidentwicklung in zwei Stunden von modifizierten 6-Schichten-System mit variierten Polykationen an Ballon Material ermittelt mittels <i>Amplex Red</i> Assay.----- 106	106

Abbildung 58: Wasserstoffperoxidentwicklung in zwei Stunden von modifizierten 6-Schichten-System mit variierten Polykationen an Schlauch Material ermittelt mittels Aplex Red Assay. -----	107
Abbildung 59: Biofilm Formation Messung von 6-Schichten modifizierten Ballon-Material im Vergleich zu dem Basis Material mit variierten Polykationen und in 3 oder 5 Schicht immobilisierten Enzym.-----	109
Abbildung 60:Biofilm Formation Messung von 6-Schichten modifizierten Schlauch-Material im Vergleich zu dem Basis Material mit variierten Polykationen und in 3 oder 5 Schicht immobilisierten Enzym.-----	110
Abbildung 61: CLSM-Bilder von Schlauch Materiale nach verschiedener <i>LbL</i> -Beschichtungen mit sechs Schichten, die in jede dritten Schicht das Enzym CDH immobilisiert hat und unter Verwendung von Polykationen mit zwitterionischen Anteil von 0%, 25%, 50% und 25% plus 25% Oktylrest, an der Luft getrocknet. Als Referenz dient eine unmodifizierte Kathetermaterial Probe.-----	111
Abbildung 62: CLSM-Bilder von Schlauch Material (PDMS) nach verschiedenen <i>LbL</i> Beschichtungen mit sechs Schichten, in der CDH in jeder dritten oder fünften Schicht immobilisiert ist und unter Verwendung von Polykationen mit einem Anteil von zwitterionischen Gruppen von 0%, 25%, 50% und 25% plus 25% Oktylrest. -----	113
Abbildung 63: CLSM-Bilder von Ballon-Material (PDMS) nach verschiedenen <i>LbL</i> Beschichtungen mit sechs Schichten, in der CDH in jeder dritten oder fünften Schicht immobilisiert ist und unter Verwendung von Polykationen mit einem Anteil von zwitterionischen Gruppen von 0%, 25%, 50% und 25% plus 25% Oktylrest. -----	114
Abbildung 64: Hansen-Parameter von PDMS Schlauch Material, berechnet aus den Quelldaten (blau ausgefüllte Kugeln liegen im Löslichkeitsbereich von PDMS, während die anderen ausserhalb des Löslichkeitsbereiches liegen).-----	118
Abbildung 65: Schematische Darstellung der Rekonstruktion von unmodifizierten PDMS über einen gewissen Zeitraum (Δt) in Wasser; bei der Silicapartikel zur wässrigen Oberfläche des Materials wandern.-----	120

Abbildung 66: Vergleich der ATRP-Initiatoren PDMS-Cl (3) und Ethyl- α -Bromoisobutyrat (8)	123
Abbildung 67: Schematische Darstellung der Anlagerung von Proteinen unterschiedlicher Größen.	130
Abbildung 68: Zeta-Potential der 6-Schichten-Systems mit Variationen der Polykationen in Abhängigkeit von pH auf verschiedenen Materialien.	139
Abbildung 69: AFM topographische Profile von Schlauch-Materialien mit einem 6-Schichten-System aus Polykationen mit 0% und 50% Zwitterion Fraktion.	141
Abbildung 70: Schematische Darstellung der Konformationsänderung des Enzymes nach der Adsorption an die positiv geladene Oberfläche.	143
Abbildung 71: Menge an auf den Material immobilisierten Enzym CDH in Relation zu Modifizierungen bevor.	147
Abbildung 72: Vergleich der gemessenen Enzymdichte mittels <i>BCA Assay</i> und den berechneten Enzymdichte durch die Wasserstoffperoxidentwicklung via <i>Amplex Red</i> .	148
Abbildung 73: Biofilm Hemmung von 6-Schichten modifizierten Ballon-Material mit variierten Polykationen und in 3 oder 5 Schicht immobilisierten Enzym relativ zum Basis-Material.	149
Abbildung 74: Biofilm Hemmung von 6-Schichten modifizierten Schlauch-Material mit variierten Polykationen und in 3 oder 5 Schicht immobilisierten Enzym relativ zum Basis-Material.	150
Abbildung 75: Beispiel eines ATR-IR-Spektrums des Polymers PDMS- <i>b</i> -PDMAEMA.	180
Abbildung 76: Beispiel eines ATR-IR-Spektrums des Polymers PDMS- <i>b</i> -PSPE.	180
Abbildung 77: Beispiel eines ATR-IR-Spektrums des Polymers PDMAEMA (9).	181
Abbildung 78: Beispiel eines ^1H -NMR-Spektrums des Polymers PDMAEMA (9) in CDCl_3 .	181
Abbildung 79: ^1H -NMR-Spektrum des PTMAEMA-co-PSPE, gemessen in MeOD.	182
Abbildung 80: ^1H -NMR-Spektrum des Makroinitiators PDMS-Cl, gemessen in CCl_3D .	182
Abbildung 81: ^1H -NMR-Spektrum des PDMS- <i>b</i> -PDMAEMA, gemessen in CCl_3D .	182

Abbildung 82: Bestimmung der kritischen Mizellen-Konzentration für das amphiphile Block-Copolymer in 1M HCl. Hier exemplarisch am PDMS-co-PSPE ₃₀ gezeigt.	183
Abbildung 83: ATR-IR-Spektrums des Polymers PDMS- <i>b</i> -PDMAEMA und PDMS- <i>b</i> -PSPE mit dem Monohydroxyl-terminierten Polydimethylsiloxan (5000 g/mol).	184
Abbildung 84: Ergebnisse der XPS-Analyse von vormodifizierten Schlauch Material und nach <i>Layer-by-Layer</i> -Beschichtung mit PSS als Polyanion und PTMAEMA als Polykation.	185

9.8 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Stoffmengenäquivalente für die Synthese von PDMS- <i>b</i> -PDMAEMA -----	36
Tabelle 2: Stoffmengenäquivalente für die Synthese PDMS- <i>b</i> -PSPE -----	37
Tabelle 3: Ergebnisse der ¹ H-NMR-Spektroskopie von der ATRP von DMAEMA unter der Verwendung von Toluol als Lösungsmittel und einem Verhältnis 1:1 von CuCl:HMTETA bei 55°C für 5 Stunden. -----	67
Tabelle 4: Ergebnisse der ATRP von DMAEMA unter der Verwendung von Toluol als Lösungsmittel und einem Verhältnis 1:1 von CuCl:HMTETA bei 55°C für 5 Stunden. -----	68
Tabelle 5: Ergebnisse der Elementar Analyse von den Polymeren PDMS- <i>b</i> -PSPE und der daraus berechneten molaren Massen im Vergleich zu kalkulierten molaren Massen der ¹ H-NMR-Spektroskopie. -----	70
Tabelle 6: Ergebnisse der ¹ H-NMR-Spektroskopie und GPC für die Synthese der Polymeren PDMAEMA. -----	72
Tabelle 7: Vergleich zwischen theoretisch und mit ¹ H-NMR und Elementar Analyse kalkuliertem bestimmten Anteil an Zwitterionen. -----	73
Tabelle 8: Menge an auf dem Träger immobilisiertem Enzym CDH, berechnet aus der Wasserstoffperoxidentwicklung der Proben. -----	108
Tabelle 9: Unterschiedliche Hansen-Parameter für PDMS -----	117
Tabelle 10: Veränderung der adsorbierten Masse der Proteine auf den modifizierten Material im Vergleich zum unmodifizierten Material getestet an dem Schlauch-Material. -----	129
Tabelle 11: Bewertung von Lösungsmitteln für die Berechnung der Hansen-Löslichkeits-Parameter mit HSPiP Software. Hierbei wurden stark quellende Lösungsmittel mit 1 und Lösungsmittel, welche das Polymer nicht quellen lassen, mit 6 bewertet. -----	183

9.9 Liste der verwendeten Materialien

Chemikalien	Reinheit	Hersteller
1,1,4,7,10,10-Hexamethyltriethylentetramin (HMTETA)		Sigma Aldrich
1,3-Propanesulton	98 %	Sigma Aldrich
2-(Dimethylamino)ethyl methacrylate	98 %	Sigma Aldrich
3-Aminopropyltriethoxysilane (APTS)	99 %	Sigma Aldrich
4-(Chloromethyl)benzoyl chloride	97 %	Sigma Aldrich
Aceton	p.a.	Fluka
Aktivekohle		Sigma Aldrich
Aluminiumoxid, aktiviert, neutral		Acros
Chloroform	p.a.	Acros
Deuterites Chloroform	99.96 %	Sigma Aldrich
Deuteriumchlorid	99 %	Sigma Aldrich
Dichlormethan	p.a.	Acros
Dimethylformamid	p.a.	Sigma Aldrich
Ethanol	p.a.	VWR
Ethylacetat	p.a.	VWR
Inhibitor removers		Sigma Aldrich
Iso-Propanol	p.a.	VWR
Kupferbromid (CuBr)	99.999 %	Sigma Aldrich
Magnesiumsulfat Hydrat, getrocknet		Riedel-deHaën
Methanol (MeOH)	p.a.	VWR
Methyliodid	99 %	Sigma Aldrich
Milli-Q-Wasser	18 MΩ	Millipore
N,N,N',N',N''-Pentamethyldiethylentriamin (PMDETA)	98 %	Fluka
Natriumdodecylhydrogensulfat	98.5 %	Sigma Aldrich
Natriumhydrogencarbonat		AppliChem
n-Hexan	p.a.	Acros
Ninhydrin	99 %	Sigma Aldrich
Oktlybromid	99 %	Sigma Aldrich

monohydroxyfunktionelle terminierte Poly(dimetylsiloxan) (mit einer molaren Masse von 1000 g/mol)		ABCR
monohydroxyfunktionelle terminierte Poly(dimetylsiloxan) (mit einer molaren Masse von 5000 g/mol)		ABCR
Poly(sodium 4-styrenesulfonate) $M_w \sim 70000$ (PSS)		Sigma Aldrich
Pyren	99 %	Acros
Salzsäure	≤ 37 %	Sigma Aldrich
synthetischer Urin (DIN-Norm 1616)		Synthetic Urine
tert-Butyl α -bromoisobutyrate	98 %	Sigma Aldrich
Tetrahydrofuran (THF)	p.a.	Merck
Toluol	p.a.	Acros
Triethylamin	p.a.	Fluka
Wasserstoffperoxid	30 %	Roth

9.10 Publikationsliste

Veröffentlichungen

Teile dieser Dissertation sind beziehungsweise werden in folgenden Fachzeitschriften publiziert:

A. Vaterrodt, B. Thallinger, K. Daumann, D. Koch, G. M. Guebitz, M. Ulbricht

Antifouling and Antibacterial Multifunctional Polyzwitterion/Enzyme Coating on Silicone Catheter Material Prepared by Electrostatic Layer-by-Layer Assembly

Langmuir **2016**, 32 (5), 1347-1359

In Vorbereitung:

A. Vaterrodt, J. Wieczorek, M. Ulbricht

Anti-Protein Adsorption Functionalization of Silicone Catheter Material by Grafting Amphiphilic Zwitterionic Silicone-based Diblock Copolymers via Adsorption/Entrapment.

Konferenzen

25. – 27.05.2014 **8th International Conference on Polymer and Fiber Biotechnology,**
Braga (Portugal)

Beitrag: Vortrag „Novel antifouling surface functionalizations using polymeric zwitterions via adsorption/entrapment and layer-by-layer deposition“

22. – 26.07.2013 **29th European Membrane Summer School 2013,**
Essen (Deutschland)

Beitrag: Poster „Silicon-based amphiphilic diblock-copolymers for antibiofouling surface modification“

16. – 21.06.2013 **Congress of the European Polymer Federation 2013,** Pisa (Italien)

Beitrag: Poster „Silicon-based amphiphilic diblock-copolymers for antibiofouling surface modification“

9.11 Lebenslauf

Der Lebenslauf ist in der Online-Version aus Gründen des Datenschutzes nicht enthalten.

9.12 Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbst verfasst und keine außer den angegebenen Hilfsmitteln und Quellen benutzt habe. Des Weiteren wurde die Arbeit in dieser oder ähnlichen Form noch bei keiner anderen Universität eingereicht.

Essen, im Juni 2016